

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA FÍSICA Y DE  
REHABILITACIÓN (HIDROLOGÍA MÉDICA)**



**TESIS DOCTORAL**

**Evaluación de los cambios en la piel tras la aplicación de  
cosméticos elaborados a partir del sedimento de las aguas  
minero-medicinales Lanjarón-Capuchina mediante métodos  
de bioingeniería cutánea**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**José Manuel Carbajo Espejo**

DIRECTORES

**Francisco Maraver Eyzaguirre  
Alfredo Michán Doña**

Madrid, 2017

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

Departamento de Medicina Física y de Rehabilitación.  
Hidrología Médica



**EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS EN LA PIEL TRAS LA  
APLICACIÓN DE COSMÉTICOS ELABORADOS A  
PARTIR DEL SEDIMENTO DE LAS AGUAS MINERO-  
MEDICINALES LANJARÓN-CAPUCHINA MEDIANTE  
MÉTODOS DE BIOINGENIERIA CUTÁNEA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**José Manuel Carbajo Espejo**

Bajo la dirección de los doctores

Francisco Maraver Eyzaguirre  
Alfredo Michán Doña

**Madrid, 2014**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA



**EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS EN LA PIEL  
TRAS LA APLICACIÓN DE COSMÉTICOS  
ELABORADOS A PARTIR DEL SEDIMENTO DE  
LAS AGUAS MINERO-MEDICINALES  
LANJARÓN-CAPUCHINA MEDIANTE MÉTODOS  
DE BIOINGENIERIA CUTÁNEA**

TESIS DOCTORAL

**José Manuel Carbajo Espejo**

**Madrid, 2014**





UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA FÍSICA  
Y REHABILITACIÓN. HIDROLOGÍA MÉDICA

FRANCISCO MARAVER EYZAGUIRRE, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA FÍSICA Y REHABILITACIÓN, HIDROLOGÍA MÉDICA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**INFORMA**, que Don **JOSÉ MANUEL CARBAJO ESPEJO**, ha realizado bajo mi supervisión el trabajo de investigación titulado: **"EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS EN LA PIEL TRAS LA APLICACIÓN DE COSMÉTICOS ELABORADOS A PARTIR DEL SEDIMENTO DE LAS AGUAS MINEROMEDICINALES LANJARÓN-CAPUCHINA MEDIANTE MÉTODOS DE BIOINGENIERIA CUTÁNEA"**. En este trabajo se llegan a unas conclusiones finales que son reflejo del conocimiento de estos productos cosméticos elaborados a partir de las aguas mineromedicinales de los centros termales y de su aplicación en la piel de personas sanas. El diseño y la metodología empleados son apropiados, y el tema desarrollado reúne la originalidad y el interés necesario, así como los demás requisitos formales exigibles para que pueda ser presentado y defendido públicamente para optar al Grado de Doctor por esta Universidad

Madrid, a 7 de enero de 2014





Alfredo Luis Michán Doña

Departamento de Medicina. Universidad de Cádiz

Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz. Hospital de Jerez.

Ronda de Circunvalación s/n

Jerez de la Frontera 11407 Cádiz

Teléfono 9560332199

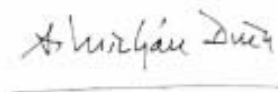
Alfredo Luis Michán Doña, Doctor en Medicina y Cirugía y  
*Profesor Coordinador de Prácticas de Grado de 3º a 6º de Medicina del  
Hospital de Jerez, del Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz,*

**INFORMA** que Don **JOSÉ MANUEL CARBAJO ESPEJO**, ha  
realizado bajo mi supervisión el trabajo de investigación titulado:  
**"EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS EN LA PIEL TRAS LA  
APLICACIÓN DE COSMÉTICOS ELABORADOS A PARTIR DEL  
SEDIMENTO DE LAS AGUAS MINEROMEDICINALES  
LANJARÓN-CAPUCHINA MEDIANTE MÉTODOS DE  
BIOINGENIERIA CUTÁNEA"**.

Tras una revisión de la literatura existente, en la que se confirma la  
originalidad del tema planteado, se plantea una hipótesis adecuada. Con un  
diseño y una metodología de investigación apropiados, se desarrolla el  
trabajo de observación que le permite alcanzar unas conclusiones finales  
que son reflejo del efecto que estos productos cosméticos elaborados a  
partir de las aguas minero-medicinales de los centros termales llevan a cabo  
tras su aplicación en la piel de personas sanas.

Por lo que reúne el interés necesario, así como los demás requisitos  
formales exigibles para que pueda ser presentado y defendido públicamente  
para optar al Grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Jerez de la Frontera, a 13 de enero de 2014







A mi madre, pionera y ejemplo.



A los Profesores Francisco Maraver Eyzaguirre y Alfredo Michán Doña por su constante apoyo y amistad.

A la empresa Balneario de Lanjarón, SA por todas las facilidades otorgadas para la utilización de sus productos

Y a todas aquellas personas que directa o indirectamente me han ayudado a la realización de este trabajo



## ÍNDICE

### Abreviaturas

### Resumen/Abstract

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	19
1.1. Las aguas mineromedicinales y la cosmética	20
1.2. Las aguas mineromedicinales de Lanjaron-Capuchina	24
1.3. Cosmética osmótica	26
1.3.1. Ósmosis y cosmética	26
1.3.2. Sales y volumen celular	29
1.3.3. Defensa epidérmica contra las sales. Osmolitos	31
1.3.4. Osmolitos de La Capuchina y antecedentes científicos	32
1.4. Mecanismos de la ósmosis	37
1.5. Regulación del volumen celular	42
1.5.1. Fundamentos de la regulación	43
1.5.2. Osmolitos	45
1.5.3. Disminución del volumen celular (RVD)	51
1.5.4. Aumento del volumen celular (RVI)	51
1.5.5. Disminución tras aumento del volumen celular (RVI post-RVD)	52
1.6. Necrosis y apoptosis por de volumen celular	54
1.6.1. Aumento necrótico (NVI-Necrotic Volume Increase)	55
1.6.2. Disminución apoptótica (AVD-Apoptotic Volume Decrease)	58
1.7. Técnicas de examen no invasivas	61
<b>2. OBJETIVOS</b>	67
<b>3. MATERIALES</b>	68
3.1. Población muestral	68
3.2. Las sales de la Capuchina	72
3.3. Formulaciones empleadas	75
3.3.1. Emulsión hidratante	76
3.3.2. Máscara facial	77
3.4. Determinaciones de inocuidad	78
3.4.1. Patch Test	80
3.4.2. In Use Test	82
3.5. Determinación de la eficacia	82
3.5.1. Determinación del sebo cutáneo	83
3.5.2. Determinación del pH cutáneo	87

3.5.3. Determinación de la función barrera .....	92
3.5.4. Determinación de la Viscoelasticidad Cutánea .....	98
3.5.5. Derterminaciones de la densidad dérmica.....	105
<b>4. MÉTODO.....</b>	<b>108</b>
4.1. Obtencion de las sales de Lanjarón-Capuchina .....	108
4.2. Método de valoración de la inocuidad .....	112
4.2.1. Patch Test .....	112
4.2.2. In-Use test.....	114
4.3. Metodología de los MENI.....	115
4.3.1. Sebumetría .....	117
4.3.2. pHmetría .....	120
4.3.3. TEWL .....	121
4.3.4. Cutometría.....	123
4.3.5. Reviscometría .....	132
4.4. Método estadístico .....	134
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>137</b>
5.1. Resultados de inocuidad .....	137
5.1.1. Patch test.....	138
5.1.2. In-Use test.....	138
5.2. Resultados de eficacia .....	139
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>141</b>
6.1. Inocuidad de los preparados .....	141
6.2. Eficacia de los preparados.....	141
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>153</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>155</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>174</b>
<b>ANEXO II .....</b>	<b>176</b>
<b>ANEXO III.....</b>	<b>177</b>

## ABREVIATURAS

$^{\circ}\text{C}$	Temperatura en grados Celcius
$\mu\text{S.cm}$	Conductividad en micro siemens por cm
$\text{Bq/L}$	Radioactividad en Bequerelios por litro
$J_v$	Flujo de agua a través de las membranas celulares (
$\Delta P$	Incremento de la presión hidrostática
$\Delta \pi$	Incremento de la presión osmótica
$\Delta \pi_{eff}$	Presión osmótica efectiva
$L_p$	Conductividad hidráulica de membrana
RVD	Disminución del volumen celular- <i>Regulatory Volume Decrease</i>
RVI	Incremento del volumen celular- <i>Regulatory Volume Increase</i>
RVI post-RVD	Disminución del volumen celular tras aumento
AVD	Disminución de volumen apoptótico- <i>Apoptotic Volume Decrease</i>
NVI	Aumento de volumen - <i>Necrotic Volume Increase</i>
NHE	Intercambiadores sodio-hidrógeno ( <i>Na-H-Exchangers</i> )
RAV	Radiación ultravioleta
$R$	La constante de gases
$T$	La temperatura absoluta
$\Delta C_i$	Diferencia de concentración de soluto en ambos lados de una membrana

$\sigma_i$	Coeficiente de reflexión para un soluto i
$C_i$	Concentración de solutos intracelulares
$C_o$	Concentración de solutos extracelulares
MENI	Medios de Exploración No Invasivos
GLP	Good Laboratory Practice Standards
NMF	Factor hidratante natural (NMF-Natural Moisturising Factor).
A	Superficie en $m^2$ (Ley de Fick)
m	Transporte de agua (en g) (Ley de Fick)
t	Tiempo (h) (Ley de Fick)
D	Constante de difusión ( $=0.0877 \text{ g/m}\cdot\text{h}\cdot\text{mm Hg}$ ) (Ley de Fick)
p	Presión de vapor atmosférica (mm Hg) (Ley de Fick)
x	Distancia desde la piel al punto de medición (m) (Ley de Fick)
dm/dt	Masa por $cm^2$ transportada en un intervalo de tiempo (Ley de Fick)
dc/dx. D	Variación en la concentración por distancia (Ley de Fick)
rmp	Revoluciones por minuto



## **ABSTRACT**

### **Introduction**

The human skin's biophysical characteristics *in vivo* constitute an important indicator of the skin's condition. Non invasive methods of exploration (MENI) used to evaluate give a direct measure of the biophysical characteristics of this organ and have the possibility of skin condition quantification.

### **Objectives**

The study was designed to distinguish the skin response after the continuous application (three months) of two different osmotic cosmetics: a Moisturizing Emulsion and a Facial Mask, both elaborated from Lanjarón-Capuchina mineral water «dry residue: 19.871 mg/l; chloride (Cl<sup>-</sup>): 8.867 mg/l; sodium (Na<sup>2+</sup>): 3.941 mg/l; calcium (Ca<sup>2+</sup>): 1.423 mg/l; magnesium (Mg<sup>2+</sup>): 235 mg/l; sulphate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>): 448 mg/l; bicarbonate (CO<sub>3</sub>H<sup>1-</sup>): 1.732 mg/l and iron (Fe<sup>2+</sup>): 28 mg/l».

The main objective of the present study was to determine the *in situ* biomechanical behaviour of skin in response to the use of two cosmetic products manufactured from the sediments (saline muds) of Capuchina water. The impact of the osmotic products on the biomechanical behaviour of human skin, its pH, sebum output, barrier function and dermal density was quantified in healthy volunteers using several non-invasive approaches.

## **Material and Method**

Experimental data were obtained in 38 healthy women aged 32 to 58 years ( $41.4 \pm 5.9$  years) with no prior skin problems of any relevance. Written informed consent was obtained from each participant after the nature of the study had been carefully explained to each one.

Subjects were instructed to apply the moisturizing cream (*Emulsión Hidratante del Balneario de Lanjarón*) to the face each day after a cleaning routine in the morning and evening. Once a week, the participants applied the face mask (*Máscara Facial del Balneario de Lanjarón*) for 20 minutes.

The biological response was registered by means of five non invasive techniques: Cutometer, Sebumeter, pH-meter, Reviscometer and Tewameter (TEWL).

Formerly safety tests were performed on cosmetic.

## **Results**

The results suggest that skin response may be modified and/or controlled, significantly reducing skin sebum (6%), TEWL (21%) and skin fatigue due to repeated suction (30%) after 15 days of treatment and stabilized after approximately 60 days.

On the other hand, a considerable increase of total skin elasticity  $U_a/U_f$  (19%), skin resistance to maximum extension  $U_f$  (5%), and dermal redensification evaluated by means of the Reviscometer (6%) was observed.

The pH and cutaneous viscoelasticity ( $U_v/U_e$ ) determinations have resulted irrelevant and not significant.

## Conclusions

We can conclude after topical application of Moisturizing Emulsion and Facial Mask of Lanjarón Spa dermatologic products, that:

- 1.- Dermatological products prepared with Lanjarón-Capuchina salts are safe and healthy for the skin after application on face.
- 2.- Sebum without affecting the skin barrier function is regulated.
- 3.- After 30 days of treatment significantly reduces transepidermal water loss. That is, the skin barrier function is enhanced.
- 4.- Skin pH is not affected after treatment implantation.
- 5.- There is a significant increase in dermal density which begins to occur after a month of treatment.
- 6.- Increased skin resistance to suction (firmness) from 15 days occurs and rises slightly to 90 days.
- 7.- Considerably increases the elasticity of the skin, which at 30 days of treatment is estimated at 20%, remaining at these values until the end of the study.
- 8.- By repeated skin suction, skin fatigue considerably decreased, 30% from baseline.
- 9.- Overall treatment application normalizes the amount of sebum, without greatly altering the ecology and skin barrier function, clearly favouring the biomechanical properties of the skin,

especially the parameters that are modified by time.

## 1. Introducción

Entre funciones fundamentales de la piel está la función “de barrera”, esencial para el mantenimiento de un adecuado comportamiento biomecánico “*in vivo*”<sup>1,2</sup>.

Habitualmente, la piel y los tejidos subcutáneos se adaptan a su forma ante fuerzas generadas por la estructura y postura corporal, recuperando su forma original, tras haber terminado la deformación.<sup>3</sup>

Desde el punto de vista fisiológico, las características biomecánicas de la piel *in vivo* son indicadores normo-funcionales muy importantes y el pH, la cantidad de sebo y la función barrera presentan una notable influencia. La edad, el sexo, la raza, el lugar anatómico, así como diversos factores externos como el fotoenvejecimiento tienen una notable importancia en la biomecánica cutánea.<sup>4</sup>

Bajo el punto de vista histo-fisiológico el comportamiento biomecánico de la piel es principalmente atribuido a las fibras de colágeno y de elastina presentes en la dermis; el colágeno dérmico es frecuentemente identificado como el determinante principal de la biomecánica global de la piel.<sup>5,6</sup> Sin

---

<sup>1</sup> Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther.* 2004; 17 Suppl 1, 43-8

<sup>2</sup> Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1758(12), 2080-95

<sup>3</sup> Rodrigues L. A avaliação biofísica da superfície cutânea: Indicadores fisiológicos da funcionalidade epidérmica, *Rev Port Farm*, 1995; Vol. XLV, nº 1: 16-23

<sup>4</sup> Ryu HS, Joo YH, Kim SO, Park KC, Youn SW. Age and regional differences on skin elasticity. *Skin Research and Technology* 2008; 14: 354–358

<sup>5</sup> Piérard G and the EEMCO Group, EEMCO guidance to the *in vivo* Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 1, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 1999; 12:352-362

<sup>6</sup> Piérard GE. Mechanical properties of aged skin: Indentation and Elevation experiments, in JL Lévêque & P.Agache Eds. “Aging Skin”, Marcel Dekker Inc. 1993; Ch.5

embargo, los tejidos conjuntivos de soporte y las capas más superficiales de la piel deben contribuir igualmente a las propiedades reológicas que aquí reconocemos.

De igual forma se conoce que las fuerzas osmóticas<sup>7</sup> ejercen una marcada actividad sobre las propiedades biofísicas de la piel, especialmente sobre las propiedades viscoelásticas cutáneas y al amparo de esta propiedad nació la cosmética osmótica.

## **LAS AGUAS MINEROMEDICINALES Y LA COSMÉTICA**

Es tradicional el empleo de aguas mineromedicinales para la elaboración de preparados dermatológicos. Es frecuente también hoy en día encontrarse en los balnearios, cosméticos o preparados para el tratamiento tópico estético, que se han confeccionado empleando peloides o minerales elaborados con sus aguas.

El desarrollo actual de preparados dermatológicos elaborados empleando como activos sus aguas mineromedicinales hemos de imputárselo a los cosmetólogos-hidrólogos franceses. Los manantiales de Vichy, La Roche Posay, Biotherm, Avène Eau Thermale y Aix-les-Bains, pueden considerarse los pioneros, y con el inicio de este siglo, empieza de crecer un nuevo concepto denominado “cosmética termal”, en el que los distintos balnearios empiezan a ofrecer, si no a fabricar, sus propias marcas cosméticas para tratamientos estéticos.

---

<sup>7</sup> Wa CV, Maibach HI. Mapping the human face biophysical properties. Skin Res Technol. 2010;16: 38-54

La cosmética termal, que tiene como principio activo teórico el agua mineromedicinal del balneario de procedencia, se plantea como una nueva forma de aprovechar mejor el principal recurso de un balneario, el agua mineromedicinal, y ofrecer un nuevo producto con características propias para darle al establecimiento un nuevo valor añadido.

Este fenómeno supuso que en el año 2006 de los 98 balnearios identificados en España, 36 poseían su propia línea de cosmética termal.<sup>8</sup> Siendo Galicia con seis, la comunidad con más balnearios con línea de cosmética termal propia.

¿Es posible que estos 36 balnearios tuvieran una cosmética original con su propia agua mineromedicinal? ¿Todos los balnearios tienen un laboratorio próximo que les permita tener la rentabilidad y las buenas prácticas de fabricación precisas, adecuadas al marco legislativo actual?.

Este discutible fenómeno se tropieza además con la proliferación actual de marcas propias, no existiendo prácticamente balneario que no tenga su propia línea de cosmética.

La realidad indica que un preparado dermatológico termal obtiene sus propiedades en función del agua mineromedicinal que contiene. En función de la calidad del agua mineromedicinal, dividimos a los cosméticos termales en:

- Con elementos característicos-elementos traza
- Hipertónicos

Los primeros, como los preparados dermatológicos termales franceses

---

<sup>8</sup> Henn MR, Lopes P, Branco B, Fraiz JA, Gonçalves JM. La importancia de la cosmética termal para los balnearios y el turismo termal: el caso de la Comunidad Autónoma de Galicia-España. PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural. 2011; 9(1): 25-35

clásicos, utilizan los minerales especiales que contienen sus aguas mineromedicinales en su composición para ejercer las actividades del mismo. Tradicionalmente las aguas termales se han empleado en el tratamiento de enfermedades inflamatorias de la piel, pero su uso había sido en gran medida empírico,<sup>9</sup> aspecto que hoy podemos descartar.

Es el caso de La Roche Posay, que es un agua casi neutra con grandes cantidades de selenio, elemento relacionado con los mecanismos de defensa esenciales de la piel contra los radicales libres, aportando a la piel propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y calmantes, que reequilibran la actividad de la piel.<sup>10</sup>

Las características físico-químicas de las aguas de La Roche-Posay dependen de la naturaleza de los materiales geológicos a través del cual el agua subterránea se ha filtrado. Así encontramos en su composición minerales solubles comunes como calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), bicarbonato ( $\text{CO}_3\text{H}^-$ ), silicatos, compuestos de hierro, sodio y magnesio, sales de azufre, y metales.

Los oligoelementos, como el selenio, así como la pureza del agua y su pH son parámetros muy importantes a considerar. Las sales de selenio son tóxicas en grandes cantidades, pero las cantidades traza del elemento son necesarias para la función celular, formando el centro activo de la glutatión peroxidasa y enzimas tiorredoxin reductasa (que reducen indirectamente ciertas moléculas oxidadas) y tres enzimas de yodonidasas conocidas (que convierten una

---

<sup>9</sup> Delaire PL, Richard A, Dubreuil A, Graber-Duvernay B. Enquêtes sur le service médical rendu par la dermatologie thermal. Presse Ther Climat. 2003;140:145-153

<sup>10</sup> Celerier P, Litoux P, Dreno B, Richard A. Modulatory effects of selenium and strontium salts on keratinocyte-derived inflammatory cytokines. Arch Dermatol Res. 1995; 287(7): 680-682



hormona tiroidea en otra).

Intrínsecamente, sus propiedades principales son la protección frente a radicales libres y anti-inflamatoria, así como la protección contra metales pesados tóxicos.

El contenido mineral de un agua termal influye al mejorar el confort cutáneo. La magnitud de suavidad y flexibilidad de la piel, así como el confort cutáneo es mayor en aguas que tienen una menor concentración de minerales (<1g/L).<sup>11</sup> Estas propiedades son muy importantes en los pacientes afectados por dermatosis crónicas, tales como la dermatitis atópica y la psoriasis, que a menudo están asociadas con la sequedad de la piel y prurito. Debido a su naturaleza débilmente mineralizada y el contenido de silicato, al agua de La Roche-Posay se la denomina "l'eau de velours" (el agua de terciopelo).

También es el caso del manantial de Avène, que tiene un agua termal que está clasificada en el grupo de las aguas débilmente mineralizadas de perfil bicarbonatado cálcico y magnésico. Entre sus principales características cabe señalar la presencia significativa de silicatos, la pobreza de sodio, la relación calcio/magnesio igual a 2 (expresada en mg/l de minerales) y una gran diversidad de oligoelementos.

Las aguas de Avène se han mostrado útiles en patologías cutáneas crónicas que necesitan una disminución de los procesos inflamatorios e irritativos,<sup>12</sup> como la dermatitis atópica y eczema, psoriasis e ictiosis, y también en

---

<sup>11</sup> Bacle I, Meges S, Lauze C, Macleod P, Dupuy P. Sensory analysis of four medical spa spring waters containing various mineral concentrations. *Int J Dermatol.* 1999;38:784–786

<sup>12</sup> Boisnic S, Branchet-Gumila MC, Segard C. Inhibitory effect of Avene spring water on vasoactive intestinal peptide-induced inflammation in surviving human skin. *Int J Tissue React.* 2001; 23(3):89-95

gingivitis y glositis, y esto tanto en bebés, como niños, adultos o mayores. También puede intervenir en los cuidados post cáncer o post radioterapia y los cuidados de quemaduras.

De otra parte están las aguas mineromedicinales que actúan más en función de su concentración en minerales, que por tener constituyentes especiales. Son aquellas hipertónicas que actúan mediante un mecanismo osmótico.<sup>13</sup>

Como se demostrará, el medio hipertónico interacciona favorablemente con el epitelio humano, originando una renovación del mismo y una mejora en las constantes fisicoquímicas de la piel. Además, los elementos mayoritarios pueden jugar su protagonismo.

## **LAS AGUAS MINEROMEDICINALES DE LANJARON-CAPUCHINA**

Las aguas mineromedicinales de Lanjarón-Capuchina son un claro ejemplo de aguas hipertónicas, si atendemos a un análisis realizado recientemente en el Departamento<sup>14</sup> podemos deducir que:

Por su temperatura 20º C., de acuerdo con el Código Alimentario Español se clasificarlan como *Hipotermales*.

Por su mineralización (Residuo seco a 110º C. = 19.871 mg/L) según el Código Alimentario Español pueden ser consideradas como aguas *De mineralización fuerte* por tener más de 1.500 mg/L.

---

<sup>13</sup> Matz H, Orion E, Wolf R. Balneotherapy in dermatology. *Dermatologic Therapy*. 2003;16: 132-140

<sup>14</sup> Maraver F, Hurtado I, Armijo F. Balneario de Lanjarón-Manantial La Capuchina. En: Maraver F, Armijo F. *Vademécum II de aguas mineromedicinales españolas*. Madrid: Ed. Complutense. 2010, 75.

Según las clasificaciones clásicas de aguas minero-medicinales que atienden a la mineralización predominante y específicamente a los porcentajes en mEq iónicos (más del 20 % en mEq) las aguas de la Capuchina (ver Tabla 1) son: *Cloruradas, Sódicas y Cállicas*.

<b>Aniones</b>	<b>mg/L</b>	<b>meq/L</b>	<b>% meq</b>
Cloruro (Cl <sup>-</sup> )	8.867	244.51	86.63
Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	1.732	28.39	10.06
Nitratos (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0.0	0.0	0.0
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> )	448	9.34	3.31
<b>Cationes</b>	<b>mg/L</b>	<b>meq/L</b>	<b>% meq</b>
Calcio (Ca <sup>++</sup> )	1.423	71.04	26.12
Hierro (Fe <sup>+++</sup> )	28	1.00	0.37
Potasio (K <sup>+</sup> )	259	6.75	2.48
Magnesio (Mg <sup>++</sup> )	235	19.35	7.12
Sodio (Na <sup>+</sup> )	3.941	171.44	63.04

**Tabla 1: Agua Lanjarón-Capuchina. Contenido iónico**

Por su contenido en hierro total = 28 mg/L, según el Código Alimentario Español pueden ser consideradas como aguas *Ferruginosas* por tener más de 5 mg/L.

Y por su contenido en anhídrido carbónico 431 mg/L, según el Código Alimentario Español pueden ser consideradas como aguas *Carbogaseosas* por tener más de 250 mg/L.

## **COSMÉTICA OSMÓTICA**

Se denomina cosmética osmótica aquella que ha sido científicamente diseñada a base de sales inorgánicas con el objetivo de mejorar la viabilidad de las células de la piel. Las sales, además de ejercer actividad osmótica, son capaces de aportar por su composición y características, algunas cualidades a la salud cutánea.

Cuando se emplean medios hipertónicos el agua celular tiende a salir al exterior, la estructura de la célula se contrae y pierde viabilidad. En este caso se ocasiona sobre la piel un efecto exfoliante/renovador por eliminación de las capas más superficiales de la epidermis. Este fenómeno está muy indicado en pieles envejecidas, fotoenvejecidas, psoriásicas, atópicas y en general en todos aquellos epitelios que necesiten una regeneración.

Las células de la piel poseen membranas semipermeables sensibles a los cambios de la presión osmótica externa. Para mantener la viabilidad, las células tienen que regular su hidratación y volumen celular. Las células se adaptan a la presión osmótica externa a través de la acumulación de iones inorgánicos de bajo peso molecular y moléculas orgánicas que regulan su contenido de agua. Estas moléculas se denominan osmolitos.<sup>15</sup>

## **ÓSMOSIS Y COSMÉTICA**

El agua se mueve fácilmente cruzando las membranas celulares a través de unos canales proteicos por un proceso que se denomina ósmosis. La osmosis

---

<sup>15</sup> Hoffmann EK, Lambert IH, Pedersen SF. Physiology of Cell Volume Regulation in Vertebrates. *Physiol. Rev.* 2009; 89: 193-277

es el movimiento del agua a través de membranas semipermeables desde soluciones con baja concentración de sales hasta soluciones con alta concentración. Los iones son moléculas con una gran capacidad de absorber agua (higroscópicas) y necesitan solvatare (adsorber agua) para estabilizar su estructura. Consecuentemente, los medios más salinos absorben agua o lo que lo mismo, el agua se dirige hacia donde existe una mayor concentración de iones.

Dos medios son isotónicos cuando la concentración de las sales disueltas a ambos de la membrana es la misma. Cuando las células están en una solución isotónica, el movimiento de agua hacia fuera está balanceado con el movimiento de agua hacia dentro. El suero fisiológico, solución de NaCl (sal) en agua a una proporción del 0,9%, constituye el modelo isotónico para las células animales. Esta solución protege los daños celulares que originan los efectos osmóticos.

Una solución es hipotónica cuando concentración de los sales disueltas en el medio extracelular es menor que en la célula. En condiciones hipotónicas, hay un movimiento de agua hacia dentro de la célula y se infla, de tal forma que si el agua no es expulsada de la célula puede estallar y destruirse.

Una solución es hipertónica cuando la concentración de sales disueltas es mayor en el medio extracelular que en la célula. En condiciones hipertónicas, hay un movimiento de agua hacia el exterior y la célula se encoge y deshidrata, perdiendo muchas funciones fisiológicas, capacidad de funcionamiento y facultad de dividirse.

El flujo acuoso a través de las membranas celulares animales se lleva a cabo

por simple difusión, aunque existen algunas proteínas de membranas especializadas que son la base de unos poros selectivos de transmembranas denominados *aquaporinas*, que incrementan considerablemente la permeabilidad acuosa en las membranas celulares.<sup>16,17</sup>

El flujo de agua a través de las membranas celulares ( $J_v$ ), depende principalmente de la diferencia entre la presión hidrostática ( $\Delta P$ ) y la presión osmótica ( $\Delta \pi$ ). Asimismo es directamente proporcional al coeficiente de conductividad hidráulica de membrana ( $L_p$ ) que es característico de cada membrana.

Las membranas de las células animales no son capaces de soportar presiones hidrostáticas elevadas y mucho menos ser capaces de generarlas. De esta forma, la presión hidrostática tiende a cero y el flujo de agua viene principalmente determinado por la diferencia en la presión osmótica, es decir por la concentración de solutos intracelulares y extracelulares.

Así, en condiciones isotónicas donde la concentración de solutos en el medio intracelular y extracelular son similares y la presión osmótica es prácticamente cero, el flujo de agua en las membranas está equilibrado.

En los medios hipotónicos la concentración de solutos intracelulares es siempre mayor que en el área extracelular por lo que la presión osmótica es mayor de cero y en consecuencia el flujo de agua a través de las membranas es negativo por lo que el agua se dirige al interior celular y la célula gana volumen

---

<sup>16</sup>Verkman AS and Mitra AK. Structure and function of aquaporin water channels. Am J Physiol Renal Physiol, 2000; 278: F13–F28

<sup>17</sup>Agre P and Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. FEBS Lett, 2003; 555: 72–78

y se hincha.

Contrariamente, en los medios hipertónicos la concentración de solutos intracelulares es siempre menor que en el área extracelular por lo que la presión osmótica es menor de cero y en consecuencia el flujo de agua a través de las membranas es positivo por lo que el agua se dirige hacia el exterior de la celular y la célula pierde volumen y se contrae.

El volumen celular es un proceso fundamental para la vida celular. No sólo interviene sobre la forma y tiene influencia en el tránsito de iones a través de su membrana celular, sino que tiene una notable influencia en la regulación de multitud de funciones celulares como el crecimiento y diferenciación, metabolismo, transporte epitelial, liberación de hormonas, su excitabilidad, migración e incluso su muerte.<sup>18</sup>

## **SALES Y VOLUMEN CELULAR**

La membrana plasmática celular es permeable al agua y prácticamente impermeable a solutos inorgánicos y orgánicos. Como se describió anteriormente, un cambio en la concentración extracelular o intracelular de iones ocasiona una corriente de agua que intenta restablecer la diferencia de presión osmótica que se ha ocasionado entre ambos lados de la membrana.

Este tránsito de agua que se produce en la célula para equilibrar su punto de equilibrio termodinámico, provoca cambios importantes en el volumen celular, aunque las células animales han desarrollado unos mecanismos

---

<sup>18</sup> Wehner F, Olsen H, Tinel H, Kinne-Saffran E, Kinne RK. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2003; 148, 1-80

específicos para restablecer el volumen inicial y no comprometer su función celular. Para el mantenimiento de la función celular es importante regular su hidratación y el volumen celular.<sup>19</sup>

Las células responden a la alteración de su volumen a través de dos mecanismos. Los procedimientos por el que las células hinchadas y contraídas retornan a su volumen normal que se denomina **RVD** (*Regulatory Volume Decrease*), disminuyen su volumen y contrariamente, el **RVI** (*Regulatory Volume Increase*) cuando tienen que incrementar su volumen para recuperarse.

El volumen celular sólo puede ser regulado por la ganancia o pérdida de solutos osmóticamente activos. Estos solutos activos son principalmente iones como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> o pequeñas moléculas denominadas osmolitos orgánicos.

En consecuencia, la regulación del volumen celular puede ser moderada exclusivamente por la ganancia o pérdida de electrolitos y osmolitos a través de un proceso de transporte de membrana.<sup>20,21</sup>

Algunas bacterias, levaduras y plantas se defienden de la alteración del volumen celular por el desarrollo de paredes extracelulares rígidas que les permite resistir diferencias de presión osmótica importantes sin que se vea afectado el volumen celular. Mientras y contrariamente, las células animales se defienden del RVD perdiendo KCl vía activación de los canales

---

<sup>19</sup> Lang F, Waldegger S. Regulating cell volume. Am Sci 1997;85:456-463

<sup>20</sup> Lang F, Busch GL, Ritter M, Volkl H, Waldegger S, Gulbins E, and Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. Physiol Rev, 1998; 78: 247-306

<sup>21</sup> O'Neill WC. Physiological significance of volume-regulatory transporters. Am J Physiol Cell Physiol. 1999; 276: 995-1011



independientes de  $K^+$  y  $Cl^-$  o por activación del cotrasportador de  $K^+/Cl^-$ .

El RVI (*regulatory volume increase*) se relaciona tanto con el KCl como con el NaCl. La acumulación intracelular de estas sales se produce por la activación del intercambio de  $Na^+/H^+$  y  $Cl^-/HCO_3^-$  o por el cotrasporte de  $Na^+/K^+/2Cl^-$ .

Estos mecanismos de transporte a través de canales son muy rápidos, se activan desde segundos a unos minutos después de que se produce la alteración del volumen celular. La activación de los transportadores de electrolitos es tan rápida debido a que los canales y cotrasportadores de iones residen en la membrana plasmática o se almacenan en vesículas en las submembranas citoplasmáticas celulares y no sólo participan en el transporte de sales y agua, también influyen en el control del pH intracelular.

## **DEFENSA EPIDÉRMICA CONTRA LAS SALES. OSMOLITOS.**

Además de los iones inorgánicos, algunas células acumulan o liberan compuestos de origen orgánico en respuesta al aumento o disminución del volumen celular que se denominan osmolitos.

En un medio hiperosmótico los queratinocitos acumularán en su interior los osmolitos necesarios para alcanzar el equilibrio. En sentido contrario, cuando la concentración de sales disminuye drásticamente en el entorno de estas células, se produce una rápida liberación de las moléculas implicadas. Con estos dos fenómenos se protegen las células epiteliales frente al estrés osmótico.

Estos osmolitos son capaces de garantizar la constancia del volumen celular que requieren los queratinocitos en cada nivel de la epidermis y se previenen

así las alteraciones del metabolismo celular, incluso en concentraciones de sales elevadas. Estas moléculas han demostrado efectividad frente a la salinidad, el calor, la deshidratación y el congelamiento,<sup>22</sup> incluso frente al estrés oxidativo<sup>23</sup> o daños originados por la radiación ultravioleta (RUV)<sup>24</sup> y en los procesos de cicatrización.<sup>25</sup>

## **OSMOLITOS DE LA CAPUCHINA Y ANTECEDENTES CIENTÍFICOS**

Como hemos señalado anteriormente, el agua de La Capuchina es clorurada sódica, cálcica, ferruginosa y carbogaseosa. En ella se encuentran también trazas no despreciables de magnesio y litio. Por todo ello y su hipertonidad, el sedimento de las aguas de este manantial parece ser ideal para el tratamiento tópico de todo tipo de pieles sensibles que tengan necesidad de renovación celular.

Este hecho se corrobora con diversos estudios que determinaron que las fuerzas osmóticas de las aguas cloruradas sódicas tienen un papel muy importante en la pérdida transepidérmica de agua (TEWL), favoreciendo la capacidad renovadora de la piel y facilitando la recuperación de la función barrera cutánea.<sup>26</sup> Esta afirmación se constató cuando se determinó que los queratinocitos expresan canales de sodio similares a las células epiteliales del

---

<sup>22</sup> Welch WJ, Brown CR. Influence of molecular and chemical chaperones on protein folding. *Cell Stress Chaperones* 1. 1996;109-15

<sup>23</sup> Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bowlus RD, Somero GN. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*. 1982; 217: 1214-22

<sup>24</sup> Rosette C, Karin M. Ultraviolet light and osmotic stress: activation of the JNK cascade through multiple growth factor and cytokine receptors. *Science*. 1996; 274:1194-7

<sup>25</sup> Degim Z, Celebi N, Sayan H, Babul A, Erdogan D, Take G. An investigation on skin wound healing in mice with taurine-chitosan gel formation. *Aminoacids*. 2002; 22:187-98

<sup>26</sup> van Kemenade PM, Houben MMJ, Huyghe JM and Douven LFA: Do osmotic forces play a role in the uptake of water by human skin? *Skin Res Technol*. 2004; 10(2):109-12

riñón y colon.<sup>27</sup>

Wiedow y col.<sup>28</sup> demostraron que el choque hiperosmótico de aguas salinas origina la liberación de una elastasa leucocitaria que tiene la capacidad de inhibir los procesos irritantes. Esta propiedad fue atribuida a la concentración en cloruro de sodio y potasio, siendo independiente de su contenido en cloruro de cálcico y magnesio.<sup>29,30</sup>

Léauté-Labrèze y col.<sup>31</sup> estudiaron la capacidad del agua salina y su combinación con radiación solar ultravioleta B (UVB) en el tratamiento del psoriasis. Determinaron que el agua salina influye notablemente en el blanqueamiento psoriásico, si bien también demostraron que el mayor blanqueamiento era producido por la radiación UVB, independientemente de que se convinara o no con el agua salina.

Las aguas del manantial de La Capuchina son ricas en calcio y magnesio. Como se conoce, el calcio y magnesio regulan la homeostasis cutánea y los queratinocitos expresan canales para el calcio, que tiene una notable influencia en la formación del cemento existente entre las células de la

---

<sup>27</sup> Brouard M, Casado M, Djelidi S, Barrandon Y, Farman N. Epithelial sodium channel in human epidermal keratinocytes: expression of its subunits and relation to sodium transport and differentiation. *J Cell Sci.* 1999; 112 (Pt 19):3343-52

<sup>28</sup> Wiedow O, Streit V, Christophers E, Stander M. Liberation of human leukocyte elastase by hypertonic saline baths in psoriasis. *Hautartz* 1989; 40: 518-522

<sup>29</sup> Yoshizawa Y, Tanojo H, Kim SJ, Maibach HI. Sea water or its components alter experimental irritant dermatitis in man. *Skin Res Technol.* 2001;7(1):36-9

<sup>30</sup> Levin CY, Maibach HI.: Do cool water or physiologic saline compresses enhance resolution of experimentally-induced irritant contact dermatitis? *Contact Dermatitis* 2001; 45(3):146-50

<sup>31</sup> Léauté-Labrèze C, Saillour F, Chène G, Cazenave C, Luxey-Bellocq ML, Sanciaume C, Toussaint JF, Taïeb A. Saline Spa Water or Combined Water and UV-B for Psoriasis vs Conventional UV-B. *Arch Dermatol* 2001; 137:1035-1039

epidermis.<sup>32</sup>

Es más, el calcio epidérmico determina el estado de la función barrera cutánea. La disminución de la proporción de calcio intraepidérmico y la disminución del pH son los principales factores influyentes en la mejora de la función barrera cutánea.<sup>33</sup> Se ha demostrado que algunas sales de calcio, en concreto el gluconato, son efectivas en la recuperación de las quemaduras químicas y en el dolor que ellas ocasionan.<sup>34,35</sup>

Es conocida también la permeabilidad cutánea del calcio y de magnesio.<sup>36</sup> Está demostrado que las sales de magnesio aplicadas tópicamente disminuyen el grado de descamación.<sup>37,38,39,40</sup> Parece que el mecanismo se establece por inhibición de algunas poliamidas cutáneas que tienen una actividad proporiásica<sup>41</sup> y que la molécula de magnesio, por competencia celular con calcio, origina vasodilatación.<sup>42</sup>

---

<sup>32</sup> Denda M, Fuziwara S, Inoue K. Influx of calcium and chloride ions into epidermal keratinocytes regulates exocytosis of epidermal lamellar bodies and skin permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol*. 2003; 121(2): 362-7

<sup>33</sup> Said L, Serup J, Rebel C. Epidermal calcium release (ECR) in vivo sampled with a simple washout chamber technique. *Skin Res Technol*. 2002; 8(4): 219-26

<sup>34</sup> Yasuda H, Honda S, Yamamoto O, Asahi M.: Therapeutic effect of topical calcium gluconate for hydrofluoric acid burn-time limit for the start of the treatment. *J UOEH*. 1999; 21(3):209-16

<sup>35</sup> Ohata U, Hara H, Suzuki H. 7 cases of hydrofluoric acid burn in which calcium gluconate was effective for relief of severe pain. *Contact Dermatitis*. 2005; 52(3): 133-7

<sup>36</sup> Laudanska H, Lemancewicz A, Kretowska M, Reduta T, Laudanski T. Permeability of human skin to selected anions and cations--in vitro studies. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2002; 112(1-4):16-26

<sup>37</sup> Greiner J, Diezel W.: [La capacidad del magnesio para inhibir la reacción inflamatoria en las reacciones de dermatitis de contacto] *Hautarzt* 1990; 41(11):602-5

<sup>38</sup> Kortling GW, Holzmann H, Morsches B: [Sobre las diferencias en el contenido de magnesio en los eritrocitos en pacientes con eczema endógeno e ictiosis vulgaris] *Arch Klin Exp Dermatol* 1967; 229:2, 126-30

<sup>39</sup> Hanada K, Akita N, Hashimoto I.: [Dermatitis por deficiencia de magnesio, cambios en el nivel de leucotrienos y efectos del cloruro de ofazelaína sobre la dermatitis y leucotrienos B4] *Nippon Hifuka Gakkai Zasshi*, 1990; 100:7, 757-60

<sup>40</sup> Hanada K, Mitsuhashi Y, Hashimoto I.: Inhibitory effect of the leukotriene B4 receptor antagonist against hypomagnesemic diet-induced dermatitis in hairless rats. *J Dermatol* 1992; 19(8):456-60

<sup>41</sup> Lowe NY, Breeding Y, Russel D. Cutaneous polyamines in psoriasis. *Br J Dermatol* 1982; 107: 21-26

<sup>42</sup> Shani J, Kushelevsky AP, Harari M, Even-Paz Z. Sustained decreased of blood pressure in psoriatic patients during treatment at the Dead Sea. *Pharmacol Res* 1995; 31: 355-359

En pieles atópicas las aguas ricas en magnesio aumentan la capacidad de la función barrera cutánea, favorecen la hidratación y reducen la respuesta inflamatoria.<sup>43</sup> Ello puede ser debido a que las aguas magnesianas inhiben la presentación de antígenos al sistema inmunitario.<sup>44</sup>

Las aguas bicarbonatadas ácidas, como las del manantial de La Capuchina, mediatizan la liberación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), estabilizándose en medio alcalino. Se conoce que el sistema carbonato/bicarbonato es el principal mecanismo de control del pH en el agua a través de la formación de un sistema estabilizador tampón.

Se ha demostrado la interacción del bicarbonato/anhidrido carbónico sobre las células del conducto sudoríparo<sup>45</sup> y una actividad antipsoriásica del agua bicarbonatada del manantial de Kangal (Turquía),<sup>46</sup> aunque por su contenido en magnesio y selenio, pueden también influir en esta actividad. El empleo de aguas ricas en CO<sub>2</sub> (1.200 mg/kg) origina también una vasodilatación cutánea y un incremento en la utilización del oxígeno por parte de las células.<sup>47</sup>

Las aguas del manantial de la Capuchina pierden su transparencia por dos

---

<sup>43</sup> Proksch E, Nissen HP, Bremgartner M, Urquhart C. Bathing in a magnesium-rich Dead Sea salt solution improves skin barrier function, enhances skin hydration, and reduces inflammation in atopic dry skin. *Int J Dermatol.* 2005; 44(2): 151-7

<sup>44</sup> Schempp CM, Dittmar HC, Hummler D, Simon-Haarhaus B, Schulte-Monting J, Schopf E, Simon JC.: Magnesium ions inhibit the antigen-presenting function of human epidermal Langerhans cells in vivo and in vitro. Involvement of ATPase, HLA-DR, B7 molecules, and cytokines. *J Invest Dermatol.* 2000; 115(4):680-6

<sup>45</sup> Pedersen PS. Influence of extracellular bicarbonate on the short-circuit current and intracellular free calcium of human cultured sweat duct cells. *Experimental Physiology* 1992; 77(6): 863-871

<sup>46</sup> Ozcelik S, Polat HH, Akyol M, Yalcin AN, Ozcelik D, Marufihah M. Kangal hot spring with fish and psoriasis treatment. *J Dermatol* 2000; 27: 386-390

<sup>47</sup> Hartmann BR, Bassenge E, Pittler M. Effect of carbon dioxide-enriched water and fresh water on the cutaneous microcirculation and oxygen tension in the skin of the foot. *Angiology.* 1997; 48: 337-343

fenómenos, la descrita pérdida de CO<sub>2</sub> y al tratarse de aguas minerales ferruginosas bicarbonatadas que tienen un pH cercano a 7, en concreto 6.4, se favorece la oxidación del hierro, pasando el hierro de Fe<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> que es más insoluble y precipita.

Esta oxidación del hierro puede proporcionar al peloide del agua de La Capuchina una alta capacidad antioxidante, con potencial inhibidor de radicales libres, por desequilibrio en las reacciones productoras de radicales libres propuestas por Fenton y Haber-Weiss.

Finalmente, las sales de litio que también contiene la Capuchina, han demostrado una actividad inhibitoria de numerosas enzimas proinflamatorias que ejercen neutrófilos y linfocitos T.<sup>48</sup> La aplicación tópica de litio es segura y su penetración percutánea es baja.

Halevy y col.<sup>49</sup> demostraron que la eficacia de la sales del mar muerto frente al psoriasis era debida a una disminución drástica de los niveles séricos de litio y manganeso en los individuos blanqueados.

Por todo ello, las sales del manantial de La Capuchina del Balneario de Lanjarón, poseen a priori cualidades suficientes para modificar la ecología de la piel.

---

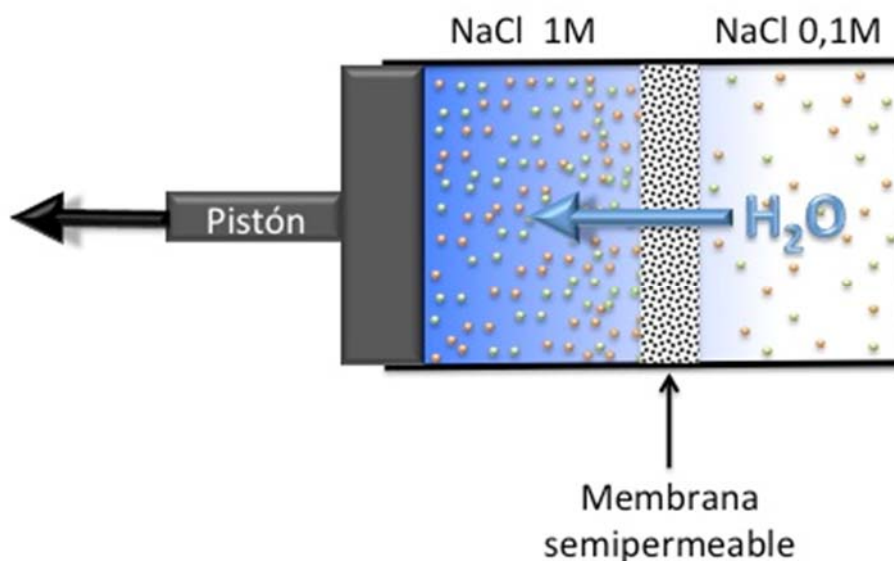
<sup>48</sup> Sparsa A, Bonnetblanc JM. Litio. Ann Dermatol Venereol. 2004; 131(3): 255-61

<sup>49</sup> Halevy S, Giryas H, Friger M, Grossman N, Karpas Z, Sarov B, Sukenik S. The role of trace elements in psoriatic patients undergoing balneotherapy with Dead Sea bath salt. Isr Med Assoc J. 2001; 3(11): 828-32

## MECANISMOS DE LA ÓSMOSIS

El movimiento de agua a través de una membrana semipermeable se denomina ósmosis. Una membrana semipermeable ideal sólo permite que la atraviese el agua.

En una membrana semipermeable que separe a dos soluciones con concentraciones de solutos diferentes, por ejemplo NaCl 0,1 M en un lado y 1 M de NaCl en el otro, el agua tenderá a desplazarse de la solución más diluida en NaCl a la más concentrada (Gráfico 1) y el flujo de agua continuará hasta que las concentraciones en NaCl en ambas soluciones se iguale.<sup>50</sup>



**Gráfico 1: Flujo de agua osmótica de dos soluciones de NaCl**

El agua se dirige de la solución con mayor concentración de agua a la de menor concentración. La concentración de agua es mayor en la solución de NaCl 0,1M que en la solución de NaCl 1 M. Este flujo de agua osmótica a través

<sup>50</sup> Strange, K. Cellular volume homeostasis. Adv Physiol Educ. 2004; 28(1-4): 155-9

de la membrana puede prevenirse ejerciendo una fuerza de compresión opuesta al sentido del flujo.

La presión que se requiere para anular el flujo de agua se denomina presión osmótica.

La ecuación matemática que define la presión osmótica fue definida por van't Hoff y es

$$\Delta\pi = RT \Delta C_i \quad [1]$$

donde  $\Delta\pi$  es la diferencia de presión osmótica,  $R$  es la constante de gases,  $T$  es la temperatura absoluta, y  $\Delta C_i$  es la diferencia en la concentración de soluto a ambos lados de la membrana. De esta forma, la presión osmótica depende directamente de la concentración de los solutos disueltos a ambos lados de la membrana.

Los términos osmolalidad y osmolaridad indican el número total de solutos presente en un kilogramo de solvente y un litro de solución, respectivamente. Un osmomol es un mol de soluto, que son  $6,02 \times 10^{23}$  partículas individuales. Se usan tanto Osmolalidad como Osmolaridad indistintamente al referirse a las disoluciones de los compuestos.

Las membranas semipermeables en realidad no se comportan de esta forma ya que no sólo son permeables al agua. Mientras algunos solutos biológicos son realmente impermeables o al menos son mucho menos permeables que el agua, otros tienen una permeabilidad similar a la del agua.



Esta alta permeabilidad en la difusión de solutos a través de las membranas se realiza a favor de un gradiente de concentración y reducen la presión osmótica. Incluso si el flujo de solutos es lo suficientemente alto a ambos lados de la membrana, puede hacer innecesario el tránsito osmótico de agua.

Con el objetivo de prever el comportamiento no ideal de las membranas Staverman acuñó el término *coeficiente de reflexión (reflection coefficient)* para un soluto i, como  $\sigma_i$ :

$$\sigma_i = \frac{\Delta\pi_{real}}{\Delta\pi_{calculada}} \quad [2]$$

donde  $\Delta\pi_{real}$  es la presión osmótica real y  $\Delta\pi_{calculada}$  es la presión osmótica teórica obtenida de la ecuación [1].

El coeficiente de reflexión se denomina así porque está en relación con la fracción de las moléculas del soluto que chocan contra la membrana, no la atraviesan y se reflejan hacia el mismo compartimiento. Si la reflexión es total, la membrana es impermeable a ese soluto y el coeficiente  $\sigma_i$  vale 1. Si la membrana es totalmente permeable a ese soluto y  $\sigma_i$  vale 0.

De esta forma se define la *presión osmótica efectiva* ( $\Delta\pi_{eff}$ ) a través de una membrana para un soluto "i" como  $\Delta\pi_{eff}$ :

$$\Delta\pi_{eff} = \sigma_i RT \Delta C_i \quad [3]$$

Se define el *flujo osmótico* a través de una membrana ( $J_v$ ) como

$$J_v = L_p(\sigma_i \Delta\pi_{calculada} - \Delta P) \quad [4]$$

donde  $L_p$  es el coeficiente de conductividad hidráulica de membrana e  $\Delta P$  es la diferencia de presión hidrostática entre ambos lados de la membrana. El coeficiente de conductividad hidráulica es una medida de la permeabilidad de agua de una membrana.

Las membranas celulares no originan un gradiente de presión hidrostática significativo y en consecuencia, puede ignorarse  $\Delta P$  en la ecuación (4). Sin embargo algunos microorganismos bacterianos y levaduras, y especialmente en las plantas que poseen paredes celulares muy rígidas, se pueden originar presiones hidrostáticas significativas que pueden tener un papel importante en el flujo de agua.

El flujo acuoso a través de las membranas celulares animales se lleva a cabo por simple difusión, aunque existen algunas proteínas de membranas especializadas que son la base de unos poros selectivos de transmembranas denominados *aquaporinas*. Estas moléculas incrementan considerablemente la permeabilidad acuosa en las membranas celulares.

El flujo de agua a través de las membranas celulares ( $J_v$ ), depende principalmente de la diferencia entre la presión hidrostática ( $\Delta P$ ) y la presión osmótica ( $\Delta\pi$ ). Asimismo es directamente proporcional al coeficiente de conductividad hidráulica de membrana ( $L_p$ ) que es característico de cada

membrana.

Las membranas de las células animales no son capaces de soportar presiones hidrostáticas elevadas y mucho menos ser capaces de generarlas. De esta forma, el incremento en la presión hidrostática tiende a cero y el flujo de agua viene principalmente determinado por la diferencia en la presión osmótica, es decir por la concentración de solutos intracelulares ( $C_i$ ) y extracelulares ( $C_o$ ).

Así, en condiciones isotónicas donde la concentración de solutos en el medio intracelular ( $C_i$ ) y extracelular ( $C_o$ ) son similares y la presión osmótica ( $\Delta\pi$ ) es prácticamente cero, el flujo de agua en las membranas está equilibrado.

En los medios hipotónicos la concentración de solutos intracelulares es siempre mayor que en el área extracelular ( $C_i > C_o$ ) por lo que la presión osmótica es mayor de cero ( $\Delta\pi > 0$ ) y en consecuencia el flujo de agua a través de las membranas es negativo ( $J_v < 0$ ) por lo que el agua se dirige al interior y la célula gana volumen y se hincha.

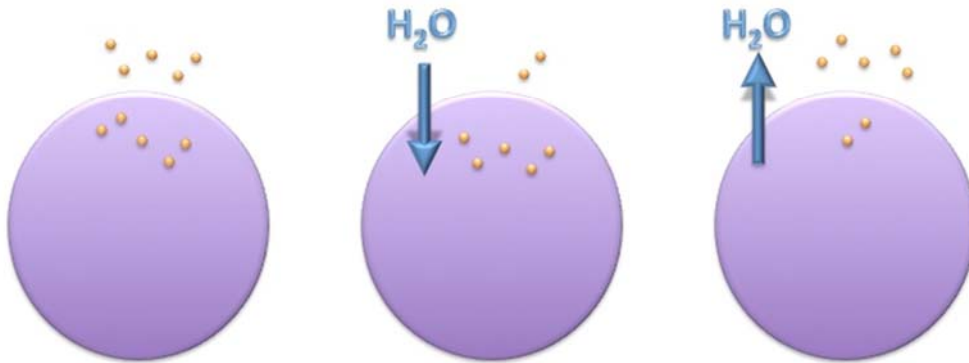
Contrariamente, en los medios hipertónicos la concentración de solutos intracelulares es siempre menor que en el área extracelular ( $C_i < C_o$ ) por lo que la presión osmótica es menor de cero ( $\Delta\pi < 0$ ) y en consecuencia el flujo de agua a través de las membranas es positivo ( $J_v > 0$ ) por lo que el agua se dirige hacia el exterior y la célula pierde volumen y se contrae (Gráfico 2).

## Medio isotónico      Medio hipotónico      Medio Hipertónico

$$C_i = C_e \rightarrow \Delta\pi = 0 \quad J_v = 0$$

$$C_i > C_e \rightarrow \Delta\pi > 0 \quad J_v < 0$$

$$C_i < C_e \rightarrow \Delta\pi < 0 \quad J_v > 0$$



**Gráfico 2: Flujo del agua a través de las membranas celulares en función de la tonicidad del medio.**

## REGULACIÓN DEL VOLUMEN CELULAR

El volumen celular es un proceso fundamental para la vida celular y no sólo interviene sobre la forma, tiene influencia en el tránsito de iones a través de su membrana celular y en la regulación de multitud de funciones celulares como el crecimiento y diferenciación, metabolismo, transporte epitelial, liberación de hormonas, su excitabilidad, migración e incluso su muerte.

La perturbación del volumen celular provoca una amplia gama de señales celulares, tanto protectoras, como la reordenación del citoesqueleto; como adaptativas, tales como la manifestación de alteraciones en la expresión de los transportadores osmóticos y proteínas de choque térmico. Ambas medidas, en la mayoría de las ocasiones, producen la activación de transporte osmótico para regular el volumen celular.

Después de una inflamación aguda celular, su volumen es regulado por un proceso de disminución de volumen regulatorio RVD (*Regulatory Volume Decrease*) que implica la activación de cotrasportador de potasio y cloro (KCl) y la activación de los canales de salida de  $K^+$ ,  $Cl^-$  y taurina.

Por el contrario, después de la contracción aguda celular, el volumen se recupera por un proceso denominado de incremento de volumen regulatorio RVI (*Regulatory Volume Increase*) que está mediado principalmente por intercambio celular de hidrógeno por sodio ( $Na^+/H^+$ ) a través del cotrasportador de sodio-potasio/cloro ( $Na^+/K^+/2Cl$ ) y los canales de  $Na^+$ .

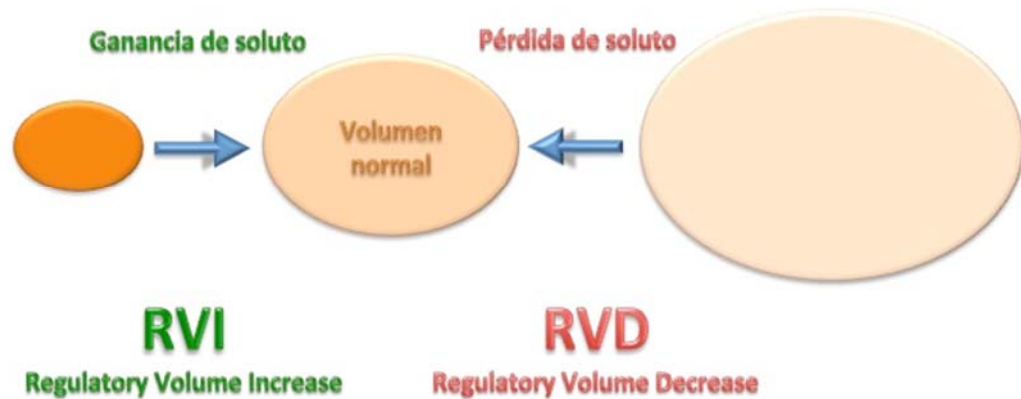
## FUNDAMENTOS DE LA REGULACIÓN

La membrana plasmática celular es permeable al agua y prácticamente impermeable a solutos inorgánicos y orgánicos. Como se describió anteriormente, un cambio en la concentración extracelular o intracelular de iones, ocasiona una corriente de agua que intenta restablecer la diferencia de presión osmótica que se ha ocasionado entre ambos lados de la membrana.

Este tránsito de agua que se produce en la célula para igualar su punto de equilibrio termodinámico, provoca cambios importantes en el volumen celular, aunque las células animales han desarrollado unos mecanismos específicos para restablecer el volumen inicial y no comprometer su función celular. Para lograr estabilizar la función celular, no solo es importante regular su volumen sino también su hidratación.

Como se describió, las células responden a la alteración de su volumen a través de dos mecanismos. Los procedimientos por el que las células

hinchadas y contraídas retornan a su volumen normal se denominan RVD (*regulatory volume decrease*) y RVI (*regulatory volume increase*), respectivamente (Gráfico 3).



**Gráfico 3: Volumen celular tras la pérdida o ganancia de solutos.**

Las células animales se defienden del RVD (*regulatory volume decrease*) perdiendo KCl vía activación de los canales independientes de  $K^+$  y  $Cl^-$  o por activación del cotrasportador de  $K^+/Cl^-$ .

Contrariamente el RVI (*regulatory volume increase*) se relaciona tanto con el KCl como por NaCl. La acumulación de estas sales se produjo por la activación del intercambio de los  $Na^+/H^+$  y  $Cl^-/HCO_3^-$  o del cotransporte de  $Na^+/K^+/2Cl^-$  (Gráfico 4).

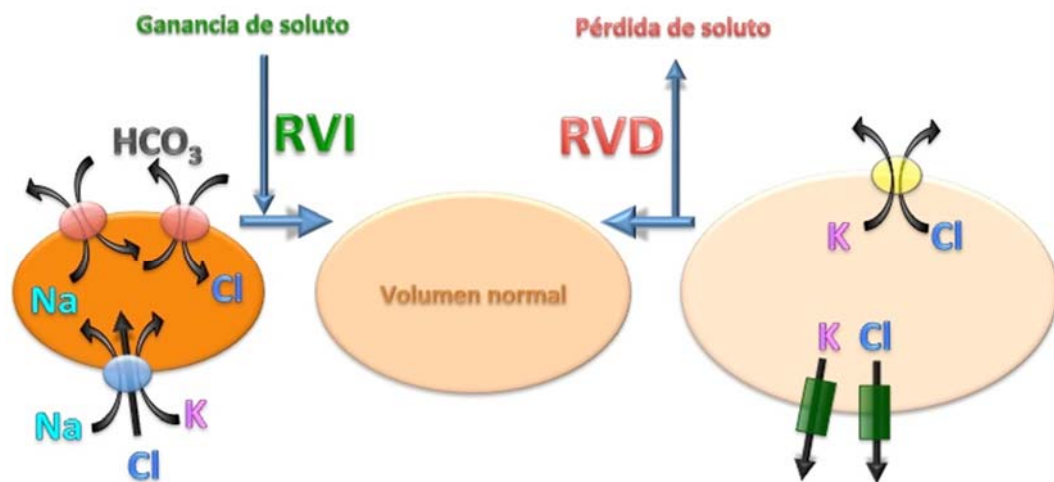


Gráfico 4: Volumen celular tras la pérdida o ganancia de solutos.

## OSMOLITOS

Las células para contrarrestar la presión osmótica externa se adaptan acumulando/expulsando iones inorgánicos de bajo peso molecular y unas sustancias orgánicas denominadas osmolitos.

Como se ha referido, los iones inorgánicos principales son el sodio, potasio, cloruro y bicarbonato. El sodio es el principal ion extracelular y el principal elemento en el mantenimiento del volumen total de agua corporal e interviene en la relación entre el volumen de líquido extra e intracelular.<sup>51</sup>

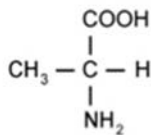
Además de los iones inorgánicos, algunas células acumulan o liberan compuestos orgánicos en respuesta al aumento o disminución del volumen celular.

<sup>51</sup> Häussinger D. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. Biochem J 1996; 313: 697-710

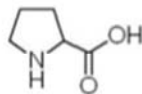
Sólo existen unos pocos grupos de osmolitos orgánicos que se clasifican en tres grupos principales (Gráfico 5):

- Polioles como el sorbitol, glicerina, inositol y mioinositol
- Aminoácidos y derivados como la taurina, alanina y prolina
- Metilaminas como las betaínas, N-óxido de trimetilamina y glicerofofoscolinas

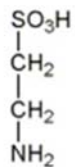
### Aminoácidos



Alanina

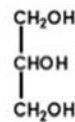


Prolina

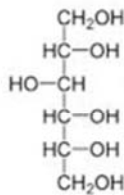


Taurina

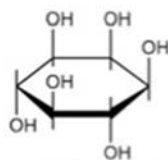
### Poliol



Glicerol

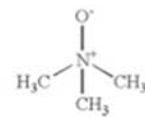


Sorbitol

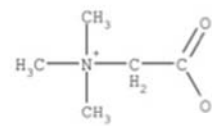


myo-inositol

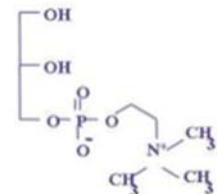
### Metilaminas



TMAO



Betaína



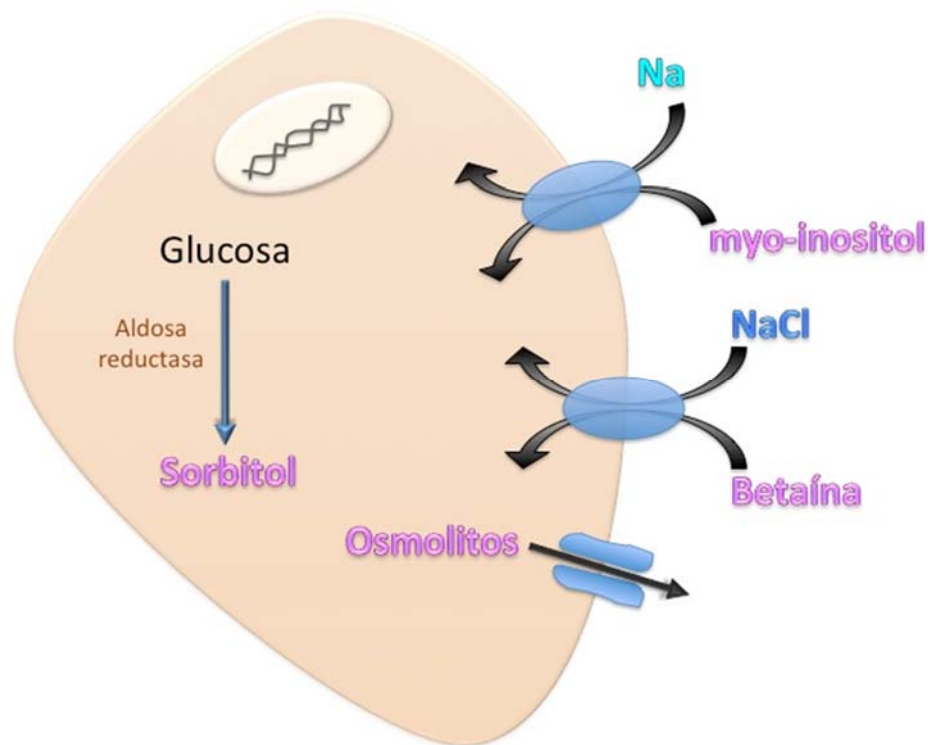
Gliceril-fosfatidilcolina

**Gráfico 5: Principales moléculas que actúan como osmolitos.**

Estos osmolitos no alteran el metabolismo celular, incluso en concentraciones elevadas. Poseen unas propiedades biofísicas y bioquímicas únicas, que permiten a las células acumularlos en grandes concentraciones y durante amplios periodos de tiempo, sin alterar su estructura y funciones.



A la inversa, los electrolitos y algunas moléculas orgánicas como la urea, pueden dañar o alterar los procesos metabólicos celulares y las estructuras nerviosas, cuando se encuentran en altas concentraciones o en contacto con ellas durante largos periodos de tiempo.<sup>52</sup> Altas concentraciones de electrolitos o electrolitos potentes, pueden originar la precipitación de macromoléculas celulares, incluso pequeños cambios en las concentraciones de iones que alteran el potencial de membrana, que se aparea a las reacciones enzimáticas y al transporte de solutos a través de las membranas (Gráfico 6).



**Gráfico 6: Mecanismos orgánicos que regulan la pérdida o acumulación de osmolitos en función de la ganancia o pérdida de soluto.**

<sup>52</sup> Horii Y, Tanida M, Shen J, Fujisaki Y, Fuyuki R, Hashimoto K, Nijima A, Nakashima T, Nagai K. Skin application of urea-containing cream affected cutaneous arterial sympathetic nerve activity, blood flow, and water evaporation. *Skin Res Technol.* 2011; 17(1): 75-81

La acumulación de osmolitos orgánicos está mediada tanto por un mecanismo de transporte que necesita energía externa, como por la regulación de los procesos de síntesis/destrucción de osmolitos orgánicos.<sup>53,54</sup>

La regulación del volumen por acción de los osmolitos orgánicos es un proceso lento, sobre todo si se compara con la regulación por electrolitos que pueden transcurrir horas hasta una total normalización. Ello es debido a que la acumulación de osmolitos orgánicos requiere síntesis enzimática y transcripción y traslación de códigos genéticos en los transportadores de osmolitos orgánicos.

La pérdida celular de osmolitos orgánicos se lleva a cabo cuando se hincha la estructura celular y se origina en dos etapas:

- La hinchazón induce en unos segundos un incremento en el flujo pasivo de osmolitos orgánicos.<sup>55</sup>
- Se disminuye la síntesis de osmolitos orgánicos, puesto que el hinchamiento celular inhibe la síntesis enzimática y la transcripción de los genes que codifican los transportadores de osmolitos orgánicos.

Aunque el primer proceso pueda ser considerado instantáneo, el resultado final es lento debido a la tardía implantación de la segunda etapa (Gráfico 7).

Como la transcripción disminuye, los niveles de mRNA caen y consecuentemente también descienden el número de proteínas funcionales

---

<sup>53</sup> Burg MB, Kwon ED, and Kültz D. Regulation of gene expression by hypertonicity. *Annu Rev Physiol*, 1997; 59: 437-455

<sup>54</sup> Chamberlin ME and Strange K. Anisotonic volume regulation: a comparative view. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1989; 257: 159-173

<sup>55</sup> Junankar PR and Kirk K. Organic osmolyte channels: a comparative view. *Cell Physiol Biochem*, 2000; 10: 355-360

durante un periodo que oscila entre muchas horas y días.

El mantenimiento constante del volumen celular en condiciones isotónicas (*steady state volume*), se logra gracias al balance entre las vías de flujo pasivas y la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPasa}$  (mecanismo de *pump and leak*).<sup>56</sup> De este mecanismo depende el cotransporte y acumulación de proteínas, azúcares y aminoácidos necesarios para las funciones metabólicas celulares. Su correcto funcionamiento permite mantener el gradiente electroquímico a través de la membrana, contrarrestando con la extrusión del  $\text{Na}^+$  y la presión osmótica más elevada en el interior celular originada por la concentración de estos osmolitos orgánicos.

La mayoría de las células de los organismos superiores no se ven expuestas a cambios substanciales en la tonicidad del medio, ya que la osmolaridad del plasma está regulada por la función renal.

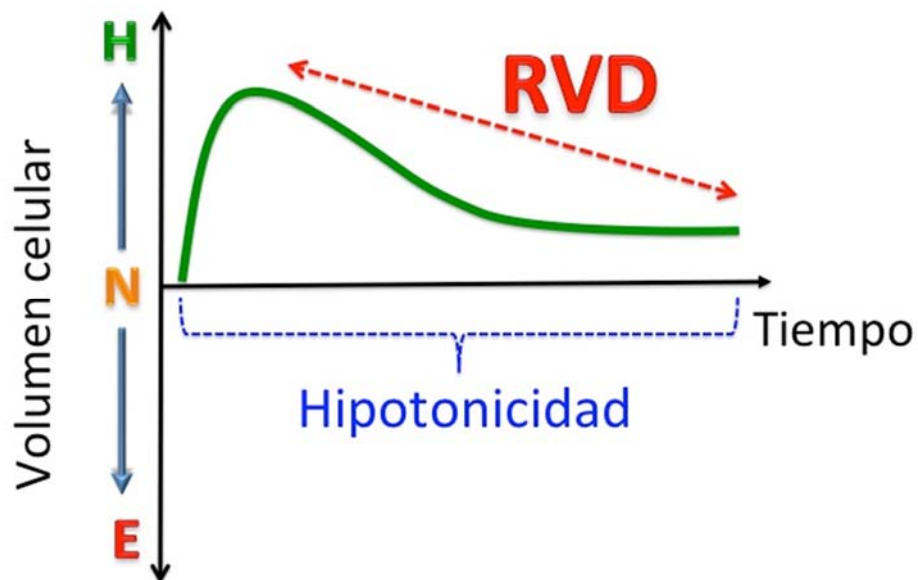
No obstante, existen algunas excepciones como las propias células de la médula renal, que se exponen a concentraciones cuatro veces superiores a la osmolaridad del plasma o las células sanguíneas cuando atraviesan el riñón y las células de algunos epitelios, como es el caso del intestino y la piel. La osmolaridad intestinal se ve modificada por la del bolo alimenticio y la de la piel, lo hace cuando se sumerge en soluciones acuosas hipo o hipertónicas.

También los seres vivos recurren a una serie de estrategias complementarias para evitar la formación de hielo en sus tejidos. Según la ley de Raoult la temperatura de congelación de las soluciones disminuye de

---

<sup>56</sup> Hallows RH, Knauf PA. Principles of cell volume regulation. In Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation (Kevin Strange, ed), Boca Raton : CRC Press. 1995; 3-29

manera proporcional a su concentración. En consecuencia, las células originan un pequeño descenso de su temperatura de congelación por concentración de sustancias de bajo peso molecular: azúcares solubles (sacarosa y rafinosa), sorbitol, betaína, aminoácidos (prolina, glicina) y poliaminas.<sup>57</sup> También es cierto que llegada a determinada concentración de osmolitos, se multiplican los problemas para mantener la estanqueidad y funcionalidad celular.



**Gráfico 7: Hinchado (H) del volumen celular frente al tiempo y posterior recuperación (RVD) en condiciones de hipotonicidad (N: normal; H: hinchamiento; E: encogimiento).**

<sup>57</sup> Mizuno A, Mitsuiki M, Toba S and Motoki M. Antifreeze Activities of Various Food Components. J. Agric. Food Chem. 1997, 45 (1): 14-18

## DISMINUCIÓN DEL VOLUMEN CELULAR (RVD)

Al exponerse una célula animal a una hipotonicidad extrema, se hincha debido a la acumulación de agua en su interior por difusión pasiva de agua proveniente del medio extracelular. La célula para recuperar su volumen inicial, incrementa la permeabilidad celular a osmolitos celulares específicos, por activación de sistemas de transporte que permiten la pérdida de estos osmolitos. Esta activación temporal reduce la osmolaridad intracelular y facilita la salida del agua que acompaña por solvatación a estos osmolitos.

Mayoritariamente las células animales activan los mecanismos para la RVD con la pérdida de KCl, bien por la activación de los canales independientes de  $K^+$  y  $Cl^-$  o bien, por la activación del cotransportador de  $K^+/Cl^-$ .<sup>58</sup>

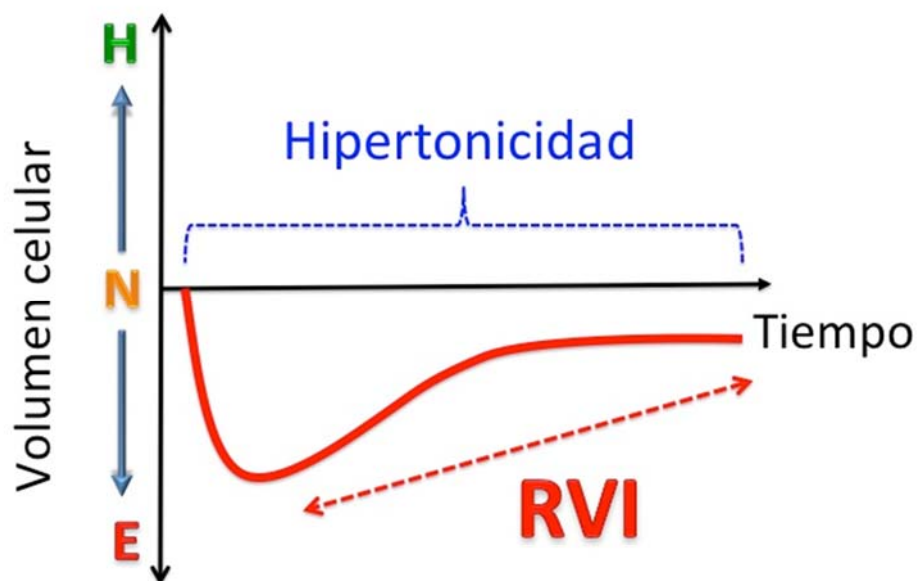
## AUMENTO DEL VOLUMEN CELULAR (RVI)

Al exponerse una célula animal a una hipertonicidad se origina una pérdida de agua que ocasiona una contracción celular. La recuperación del volumen celular consiste en la captación de osmolitos inorgánicos del medio externo. La acumulación intracelular de sales (principalmente NaCl y KCl) y del agua arrastrada por estos electrolitos, se logra por activación de los intercambiadores de  $Na^+/H^+$  y  $HCO_3^-/Cl^-$  o por activación del cotransportador de  $Na^+/K^+/2Cl^-$ .<sup>59</sup>

---

<sup>58</sup> Okada Y, Maeno E, Shimizu T, Dezaki K, Wang J, Morishima S. Receptor-mediated control of regulatory volume decrease (RVD) and apoptotic volume decrease (AVD). *J.Physiol* 2001; 532, 3-16

<sup>59</sup> Hoffmann EK, Dunham PB. Membrane mechanisms and intracellular signalling in cell volume regulation. *Int Rev Cytol*. 1995; 161, 173-262

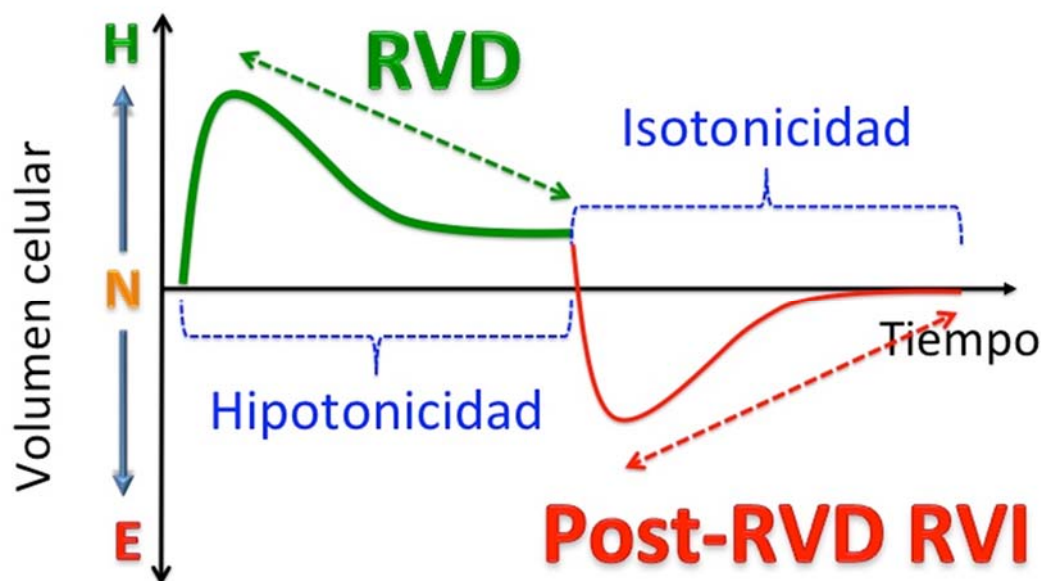


**Gráfico 8: Encogimiento (E) y posterior recuperación del volumen celular (RVI) que sucede en condiciones de hipertonicidad (N: normal; H: hinchamiento; E: encogimiento).**

Se ha demostrado que en algunas células se activan los canales de  $\text{Na}^+$ , lo que supone un mecanismo más rápido y eficiente que regula el volumen celular, pues es capaz de multiplicar por 4-5 la capacidad de transporte de los sistemas de transporte activos. No obstante, aún no se han podido identificar claramente.

### **DISMINUCIÓN TRAS AUMENTO DEL VOLUMEN CELULAR (RVI POST-RVD)**

La mayoría de las células animales después de un hinchamiento son capaces de activar la RVD para evitar su destrucción por estallido, sin embargo, muchas células cuando se encuentran en condiciones hipertónicas son incapaces de desencadenar la RVI.



**Gráfico 9: Cambio de hipotonicidad a isotonicidad origina una activación de mecanismos de captación de osmolitos celulares en un proceso denominado post-RVD RVI. (N, normal; H, hinchamiento; E, encogimiento).**

Estas mismas células, cuando se someten a un a estrés hipotónico y recuperan parte de su volumen por activación de RVD, si en ese mismo momento se someten a un entorno isotónico, se encogen hasta conseguir un volumen inferior al que alcanzarían después de ser sometidos a un choque hipertónico y se hubiera activado la RVI. (Gráficos 8 y 9) Se desconoce la razón por la que en muchas células la RVI sólo sucede en el paso de hipotonicidad a isotonicidad y no de isotonicidad a hipertonicidad. Este proceso es denominado RVI post-RVD.<sup>60</sup>

<sup>60</sup> McCarty NA, O'Neil RG. Calcium signaling in cell volume regulation. *Physiol Rev.* 1992; 72, 1037-1061

Consecuentemente, la regulación del volumen celular se realiza en dos etapas:

- Adaptación rápida (segundos o minutos) por sistemas de transporte localizados en la membrana que implican la pérdida o ganancia de iones ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ )
- Un mecanismo de adaptación lenta (horas o días) a través de osmolitos orgánicos, que a diferencia de los osmolitos inorgánicos, llegan a alcanzar concentraciones muy altas (10-100mM) sin modificar ni la estructura celular ni sus funciones.<sup>61</sup>

Este segundo mecanismo es imprescindible para la homeostasis celular por regulación a nivel transcripcional de los genes implicados en la síntesis/degradación de estos osmolitos orgánicos o bien de sus transportadores (principalmente de cotransporte con  $\text{Na}^+$ ).

## **NECROSIS Y APOPTOSIS POR DE VOLUMEN CELULAR**

Una propiedad fundamental de las células animales que es la capacidad de regular su volumen celular propio y la desregularización entre la osmolaridad intra y extracelular, se puede traducir en una alteración del volumen de la célula.

La pregunta subsecuente es: ¿son capaces las células de soportar un medio extremo hipotónico o hipertónico sin perder su viabilidad?

---

<sup>61</sup> Waldegger S, Steuer S, Risler T, Heidland A, Capasso G, Massry S, Lang F. Mechanisms and clinical significance of cell volume regulation. Nephrol.Dial.Transplant. 1998; 13: 867-874



La respuesta es clara: ¡no!.

En condiciones extremas se produce un proceso de destrucción celular por distintos mecanismos que impiden su viabilidad.

Que una célula de mamífero letalmente lesionada, sufra necrosis o apoptosis puede determinarse estudiando la activación temprana de canales iónicos específicos en la superficie celular.

La muerte celular por apoptosis requiere la salida de  $K^+$  y  $Cl^-$ , que conduce a la contracción celular, un fenómeno activo que se denomina disminución de volumen apoptótico (AVD).

Contrariamente, para la necrosis se ha demostrado que se requiere la entrada de  $Na^+$  a través de los transportadores de membrana y canales de cationes.

Estos canales presentes en todas las células se mantienen latentes en las células viables, pero se activan tras la exposición a radicales libres. La subsiguiente entrada de  $Na^+$  provoca el hinchamiento celular y una respuesta activa que se denomina aumento de volumen necrótico (NVI).<sup>62</sup>

### **AUMENTO NECRÓTICO (NVI-NECROTIC VOLUME INCREASE)**

En un principio el mecanismo por el que se produce la RVD parece simple, con expulsión de  $KCl$  y recuperación del volumen normal. Sin embargo, presenta un complejo número de mecanismos moleculares característicos en

---

<sup>62</sup> Barros LF, Hermosilla T, Castro J. Necrotic volume increase and the early physiology of necrosis. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2001;130(3): 401-9

las distintas células.<sup>63</sup>

Las células son capaces de detectar pequeñas variaciones de volumen, incluso inferiores al 3% y se han propuesto dos mecanismos esenciales como respuesta a la detección de este aumento en el volumen, cambios celulares mecánicos y alteraciones bioquímicas citoplasmáticas.

En este sentido se proponen como mecanismos para detectar cambios en el volumen celular los siguientes:

- canales mecanosensibles
- proteínas de membrana, citosólicas o del citoesqueleto, que se alteran frente a estos cambios inducidos por el hinchamiento.

La relación entre todas las señales de activación durante la RVD hace muy difícil identificar el hito inicial responsable de desencadenamiento de la regulación del volumen. Las células presentan un amplio abanico de sensores del volumen que responderían en función de la magnitud y la naturaleza de la perturbación del volumen.<sup>64</sup>

Sin embargo, se conoce que cuando las células son hinchadas por un medio hipotónico, para defenderse hay expulsión de iones y salida de osmolitos, principalmente sorbitol, inositol y taurina. Este es el principal hito que se fija como activador del mecanismo RVD<sup>65</sup>.

---

<sup>63</sup> Jakab M, Furst J, Gschwentner M, Botta G, Garavaglia ML, Bazzini C, Rodighiero S, Meyer G, Eichmueller S, Woll E, Chwatal S, Ritter M, Paulmichl M. Mechanisms sensing and modulating signals arising from cell swelling. *Cell Physiol Biochem*. 2002; 12: 235-258

<sup>64</sup> MacLeod RJ. How an epithelial cell swells is a determinant of the signaling pathways that activate RVD. In *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation* (Kevin Strange, ed). 1994; pp. 191-200

<sup>65</sup> Wright A, Rees S. Cardiac cell volume: crystal clear or murky waters? A comparison with other cell types. *Pharmacol Ther*. 1998; 80: 89-121

Existe consecuentemente eflujo de KCl por activación paralela de los canales de  $K^+$  y  $Cl^-$  y a la par, se produce un aumento significativo en la concentración de  $Ca^{2+}$  en el citosol, activándose los canales potasio-dependientes de la conductancia del  $Ca^{2+}$ .

El NVI conlleva un aumento del volumen celular, pero en este caso el mecanismo que lo desencadena es un daño accidental en la célula, especies reactivas de oxígeno u otros fenómenos inducen el flujo de iones de  $Na^+$  al interior celular y la liberación de ATP hacia el exterior, así como una disminución patológica de ATP por una sobrecarga de trabajo de la bomba de  $Na^+$ . Todo ello origina una pérdida de integridad de la membrana plasmática, seguida por liberación de enzimas y degradación inespecífica del DNA.<sup>66</sup>

También se ha demostrado que la activación de un canal catiónico no selectivo y sensible a  $Ca^{2+}$  por el radical hidroxilo está involucrado en la muerte por necrosis. Aunque este canal es también permeable a  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Rb^+$  y  $Cs^+$  e impermeable a  $Ca^{2+}$ , su actividad depende de la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$ .<sup>67</sup>

Como se ha descrito la necrosis se activa como consecuencia de un daño celular severo y no es controlada transcripcionalmente. Sin embargo, evidencias recientes sugieren que la necrosis también podría ser un tipo de muerte programada que participa de características bioquímicas clásicas de la

---

<sup>66</sup> Taimor G, Lorenz H, Schlüter B. H, Piper H. M. Induction of necrosis but not apoptosis after anoxia and reoxygenation in isolated adult cardiomyocytes of rat. *Cardiovasc Res.* 1999; 41: 147-156

<sup>67</sup> Simon F, Varela D, Eguiguren AL, Díaz LF, Sala F, Stutzin A. Hydroxyl radical activation of a  $Ca^{2+}$ -sensitive nonselective cation channel involved in epithelial cell necrosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004; 287(4):C963-70

apoptosis. En neuronas y células gliales expuestas a estrés hiposmótico se observa muerte por necrosis, documentada morfológicamente, con activación temprana de Caspasa-3, sugiriendo su participación en la muerte por necrosis.<sup>68</sup>

### **DISMINUCIÓN APOPTÓTICA (AVD-APOPTOTIC VOLUME DECREASE)**

Contrariamente a la muerte celular necrótica (NVI), el encogimiento celular es la característica de la apoptosis por AVD después de estar sometida una célula a un proceso hiperosmótico.

El principal mecanismo de defensa en AVD se lleva a cabo por los intercambiadores de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE: Na-H-Exchangers) que son muy comunes en las células animales.

En los mamíferos los NHEs pertenecen a la familia de receptores SLC9A y se han caracterizado al menos 10 tipos que pertenecen al grupo de transportadores denominados de cationes monovalentes, de los que los tipos 2 y 3 se localizan especialmente en células epiteliales.

Su actividad reside principalmente en la regulación de la homeostasis y el volumen celular, el control del pH de la superficie celular y el transporte de iones.<sup>69</sup> En consecuencia son vitales para las funciones celulares como la migración, tráfico de vesículas, crecimiento, proliferación y muerte celular. La supervivencia celular tiene una especial dependencia de los NHEs y su ausencia o alteración se enlaza a múltiples patologías como cáncer, diabetes,

---

<sup>68</sup> Niquet J, Allen S, Baldwin R, Wasterlain C. Evidence of caspase-3 activation in hyposmotic stress-induced necrosis. *Neurosc Lett*. 2004; 356: 225-227

<sup>69</sup> Alexander RT, Grinstein S.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchangers and the regulation of volume. *Acta Physiol* 187: 159-167, 2006

hipertensión y epilepsia, entre otras.

Los NHE1 son activados por el encogimiento celular (RVI) y son inhibidos por el hinchamiento celular<sup>70</sup>, lo que constituye un mecanismo de regulación volumétrica de la homeostasis.

La apoptosis puede producirse como respuesta a diversos estímulos tanto fisiológicos como patológicos. Una característica importante de la muerte celular programada es la contracción de las células normotónicas.

Con estos mecanismos, la apoptosis por encogimiento celular se lleva a cabo en dos fases:

- Antes de producirse la fragmentación celular o de que se formen los cuerpos apoptóticos
- La asociada a la fragmentación celular propiamente dicha.

La primera etapa se denomina disminución de volumen apoptótico (AVD) y se produce bajo condiciones normotónicas sin inducción (o por invalidación) del mecanismo de RVI, probablemente por activación de los canales  $K^+$  y/o  $Cl^-$ <sup>71</sup>.

La inducción de la disminución de volumen de apoptosis (AVD) se ha demostrado que es precedida la liberación de citocromo C, a la activación de la caspasa-3 y a la fragmentación de ADN.

---

<sup>70</sup> Elsing C, Gosch I, Hennings JC, Hubner CA, Herrmann T. Mechanisms of hypotonic inhibition of the sodium, proton exchanger type 1 (NHE1) in a biliary epithelial cell line (Mz-Cha-1). *Acta Physiol.* 2007; 190: 199–208

<sup>71</sup> Okada Y, Maeno E. Apoptosis, cell volume regulation and volume-regulatory Chloride channels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2001; 130(3): 377-383

Asimismo, la inducción AVD normotónica va pareja a la disminución del volumen regulatorio (RVD), que se alcanza por el funcionamiento en paralelo de canales de  $\text{Cl}^-$  y de  $\text{K}^+$ , en condiciones hipotónicas.

La estimulación de los receptores tumorales como  $\text{TNF}\alpha$  y Fas, induce la AVD en multitud de tipos de celulares, por lo que deben ser considerados como los efectores de la apoptosis.

En las células en AVD, siempre se observa el mecanismo de RVD, aunque tanto la inducción del mecanismo de AVD como la implantación del RVD, al igual que la misma apoptosis, pueden ser suprimidos por un tratamiento previo con bloqueadores de los canales de  $\text{K}^+$  o  $\text{Cl}^-$ .

Este hecho sugiere que la AVD es causada por la activación en condiciones normotónicas de los canales de iones que participan normalmente en la RVD en condiciones hipotónicas. Por lo tanto, es probable que los receptores G involucrados en la regulación de la RVD y la activación de receptores apoptóticos AVD, puedan compartir señales y mecanismos que deben dar pistas para la supervivencia de las células animales.

En el Gráfico 10 se muestra el esquema del mecanismo iónico para RVD y RVI bajo condiciones fisiológicas como también para AVD y NVI bajo condiciones fisiopatológicas. La condición balanceada es descrita en el centro del mismo. Tres diferentes mecanismos para RVI y RVD son descritos arriba a la izquierda y arriba a la derecha, respectivamente. Los mecanismos de inducción del AVD y NVI están abajo a la izquierda y abajo a la derecha respectivamente. Muerte por apoptosis y necrosis podrían ser gatilladas por

persistente recogimiento o hinchamiento celular, como se describe a la izquierda y a la derecha de las células respectivamente.

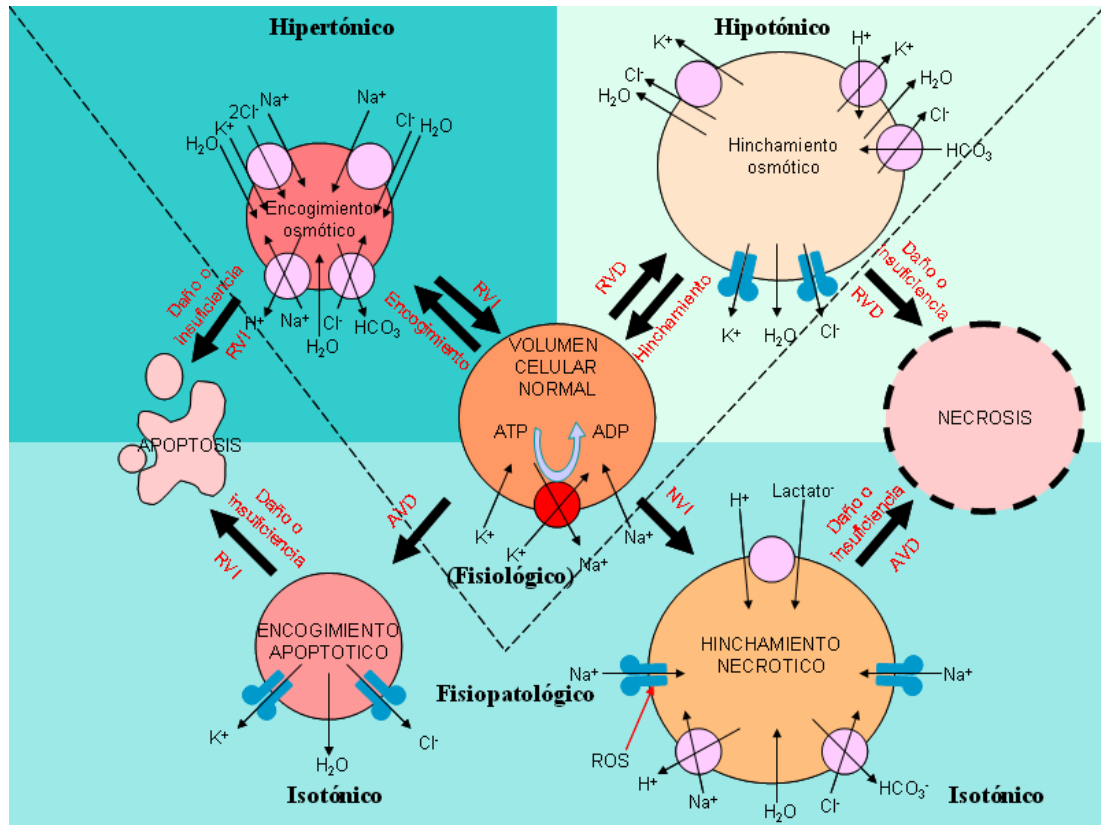


Gráfico 10: Esquema del mecanismo iónico para RVD y RVI bajo condiciones fisiológicas y fisiopatológicas.

## TÉCNICAS DE EXAMEN NO INVASIVAS

En la actualidad tenemos numerosos instrumentos que pueden revelar los misterios de la piel, tanto sana como enferma, y todo ello sin tocar la superficie.

Un triunfo de la creatividad de la bioingeniería.

Por otra parte, a diferencia de los tradicionales estudios histológicos que proporcionan una imagen estática en un punto en el tiempo, destrozando la zona cutánea para su posterior estudio, las técnicas de bioingeniería presentan una imagen en movimiento de eventos secuenciales en tiempo real, que permiten al investigador apreciar la evolución del estado cutáneo sin alterar su homeostasis.

Las características biofísicas de la piel humana *in vivo* constituyen un importante indicador de una buena condición cutánea. Los Medios de Exploración No Invasivos (MENI) empleados habitualmente para este tipo de evaluación, permiten obtener una medida directa de las características biofísicas del órgano y cuantificar la idoneidad de las condiciones cutánea.

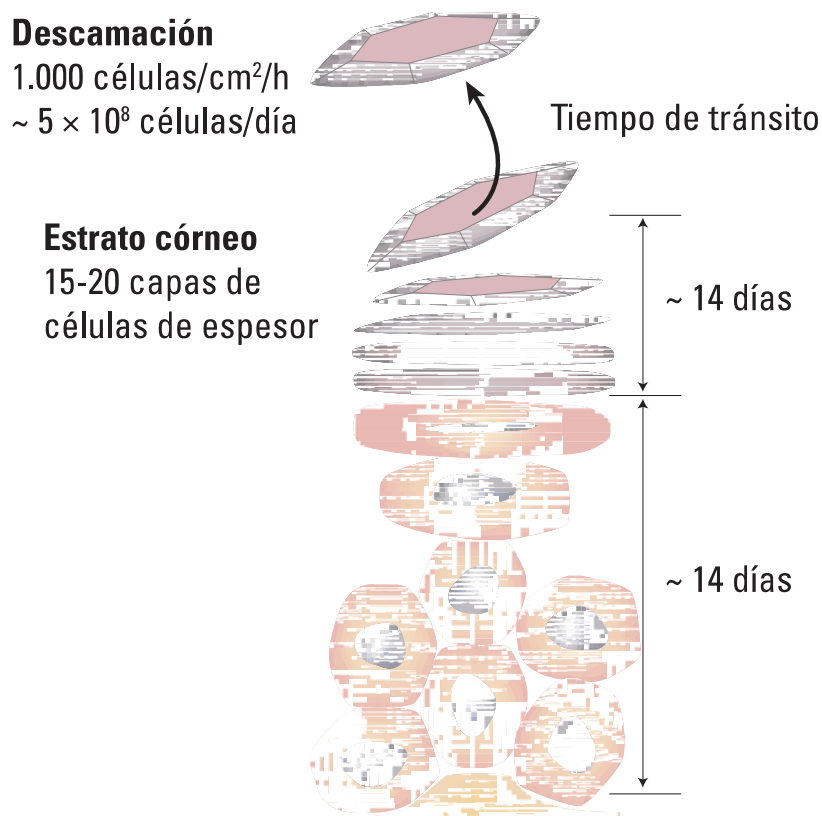
Los procedimientos no invasivos no involucran dispositivos que rompen la piel o que penetran físicamente en el cuerpo. Así, el desarrollo de las técnicas de diagnóstico *in vivo*, no invasivas, han significado un importante avance para facilitar el diagnóstico diferencial de la piel y sus tratamientos dermatológicos.

La epidermis se renueva permanentemente por descamación invisible. La eliminación de las células del estrato córneo se realiza de forma natural principalmente por rozamiento, excepto en los pliegues y cuero cabelludo, donde las maniobras del aseo personal son muy necesarias para su renovación, puesto que el índice de fricción es menos intenso (Gráfico 11).

La emulsión epicutánea hace que el estrato córneo sea flexible. Esta emulsión se forma por el agua de la perspiración insensible, las sustancias grasas del sebo, el colesterol y los aminoácidos provenientes de la regeneración epidérmica, así como pequeñas cantidades de urea y electrolitos



provenientes del sudor ecrino. Esta capa confiere un carácter ácido estable al revestimiento cutáneo y juega un papel muy importante en la funcionalidad de la barrera cutánea y en su contenido en microorganismos.<sup>72</sup>



**Gráfico 11: Ciclo de regeneración cutánea. Muerte celular durante la descamación.**

Una abrasión química (*Peeling*) consistente en disgregar/eliminar los corneocitos superficiales con el objetivo de alisar, suavizar y renovar las capas epidérmicas superficiales, ofreciendo una piel renovada y un aspecto más juvenil.

<sup>72</sup> Carbajo JM. Limpieza cosmética e higiene. En Atención Farmacéutica en Dermofarmacia: Módulo I, Plan Nacional de Formación Continua. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. BGA Asesores. Madrid 2008, Págs.159-200

Cosméticamente se conoce por *peeling* la operación de eliminar las capas más superficiales del estrato córneo epidérmico, ejerciendo una exfoliación que estimulará la neoformación acelerada de un nuevo estrato córneo.

El procedimiento puede realizarse de dos formas:

- Físicamente:
  - Scrub: a través de partículas abrasivas incorporadas a un vehículo cosmético.
  - Mediante dispositivos mecánicos, radiaciones electromagnéticas o cualquier agente físico que elimine la capa superficial de la piel
- Químicamente:
  - *Peeling* abrasivo: con el empleo de moléculas destructoras de las uniones intercorneales
  - *Peeling* enzimático: con el empleo de moléculas que alteren o inhiban la posibilidad de formarse las uniones intercorneales
  - *Peeling* salino: con el empleo de preparados dermatológicos hiperosmóticos, como los elaborados con sales del mar Muerto o La Capuchina del balneario de Lanjarón, que desnaturalizan las proteínas epidérmicas de las uniones entre los corneocitos y cuestionan la viabilidad celular favoreciendo la apoptosis.

Los abrasivos actúan sobre las uniones intercorneales. Existen cuatro tipos de uniones entre las células del estrato córneo:

- Intercelulares: a través de estructuras (desmosomas, gaps, adherens y occludents)
- Enlaces covalentes intercorneales
- Enlaces iónicos intercorneales
- A través del cemento intercorneal y sus elementos funcionales.

Todos estos elementos cohesionan el estrato córneo de la epidermis y su modificación conllevará su desprendimiento y posterior sustitución.

Caso de confirmarse, ambos fenómenos proporcionarán un epitelio renovado con una función barrera mejor desarrollada, más elástico y plástico que favorecerán la redensificación de la dermis, y así:

- La Tewametría confirmará a través del aumento de la pérdida transepidérmica de agua que hemos afinado el estrato córneo y que consecuentemente hemos realizado un peeling salino.
- La pH-metría orientará si el fenómeno se debe a un cambio paulatino de pH o es consecuencia directa de un fenómeno apoptótico.
- La sebumetría relacionará la influencia de las sales sobre la cantidad de sebo generado o la facilidad para ser evacuado, al disminuirse el grosor cutáneo debido al efecto del peeling salino. Asimismo descartará que los efectos originados sean debidos a el aumento de sebo originado por la colocación de una emulsión sobre la piel.

- La cutometría puede dar información del estado de renovación celular, que tendrá una relación directa con el turn-over celular y consecuentemente, con las células cutáneas que realizan apoptosis. Determinaremos la turgencia, elasticidad, viscoelasticidad y fatiga cutánea, que afectan principalmente de epidermis.
- La Reviscometría proporcionará una idea clara de cómo las sales pueden tener influencia en dermis a través de su redensificación o no, y si las sales de La Capuchina son capaces de atravesar un estrato córneo más fino e influir sobre los fibroblastos dérmicos.

## 2. Objetivos

El presente estudio se diseñó al objeto de esclarecer el comportamiento cutáneo tras la aplicación continuada durante tres meses de dos preparados dermatológicos osmóticos del Balneario de Lanjarón: la Emulsión Hidratante y la Máscara Facial, ambos elaborados con sedimentos salinos del manantial de Capuchina. El primero de ellos con características isotónicas y el segundo con propiedades muy hipertónicas para la piel.

Las respuestas biológicas se registrarán a través de cinco técnicas no invasivas: Cutometría, Sebumetría, pH-metría, Reviscometría y Tewametría (TEWL).

Se trata pues de valorar indirectamente si las sales del manantial de La Capuchina afectan a la viabilidad celular cutánea, influyendo en la ósmosis celular en su caso, regulando la humectación de los queratinocitos basales a través de un cosmético isotónico y favoreciendo la renovación celular a través de un medio hipertónico.

Para el presente trabajo se estudió el comportamiento de dos preparados tópicos a base de sales del manantial La Capuchina del Balneario de Lanjarón, que fueron aplicados durante tres meses en 38 voluntarios humanos, sobre los que se determinaron algunas constantes físicas cutáneas mediante medios de exploración no invasivos (MENI), antes, durante y al finalizar el tratamiento.

## **POBLACIÓN MUESTRAL**

Se emplean dos grupos de voluntarios, uno previo para valorar la inocuidad de los preparados dermatológicos, randomizado, en donde se incluyen pacientes de ambos sexos, distintos fototipos y edades diversas, y el segundo, para la determinación de la eficacia, adecuado a las necesidades para las que se designan los preparados dermatológicos.

Para el estudio previo de inocuidad, Patch Test e In-Use test, se estableció el siguiente protocolo de reclutamiento de voluntarios:

### **1) Selección de voluntarios**

Cada voluntario firmó un consentimiento informado para la realización del Patch Test. Se incluyeron en este estudio a 35 voluntarios humanos de ambos sexos entre 18 y 63 años (edad media sobre 34 voluntarios:  $27,4 \pm 10,2$ ; fototipos II-III-IV), con buen estado de salud y libre de alteraciones cutáneas. La selección se hizo según los criterios de inclusión y exclusión que se describen a continuación. Un voluntario abandonó el estudio por razones no sanitarias.

### **2) Criterios de inclusión**

- Raza: caucásica.
- Edad: entre 18 a 65 años.
- Estado de salud: ausencia de enfermedad antes del estudio.
- Conocimiento del idioma español.
- Fácilmente contactable.
- Todos los tipos de piel

### 3) Criterios de exclusión

- Voluntarios que no cumplen los criterios de inclusión del punto anterior.
- Embarazadas y madres lactantes.
- Voluntarios afectados por enfermedades de piel temporales o crónicas.
- Voluntarios con intolerancia a medicamentos, productos cosméticos, etc.

### 4) Criterios de eliminación

Cualquiera de las razones siguientes se considera causa suficiente para interrumpir la participación del voluntario en el estudio:

- Falta de comunicación del voluntario por cualquier razón
- Opción libre por parte del voluntario
- Razones médicas que no tienen relación con el test: operaciones, enfermedades, etc.
- Reacciones irritantes o alérgicas debidas al preparado dermatológico probado
- Restricciones: durante la realización del test y las tres semanas

anteriores de la prueba, los voluntarios no deben usar ningún otro producto en las áreas a testar.

Los datos para la determinación de la eficacia de los preparados a través de MENI, fueron obtenidos en otros voluntarios humanos (n=38) de sexo femenino, con edades comprendidas entre los 32 y 58 años ( $41,4 \pm 5,9$ ), sin ninguna patología o antecedentes cutáneos relevantes. Los contenidos del protocolo experimental fueron comunicados y explicados con antelación a cada uno de los voluntarios, que expresaron su consentimiento escrito a la ejecución del mismo.

#### 1) Selección de voluntarios

Se escogió para la experiencia con medios de exploración no invasivos a 38 voluntarias, con buen estado de salud y libre de alteraciones cutáneas, porque las mujeres están más habituadas al empleo de cosméticos sobre el rostro. Entendimos que permitir la entrada a hombres supondría un mayor caso de abandonos, y como cada paciente es su propio patrón, consideramos este aspecto más trascendente que escoger voluntarios de ambos sexos.

Preferimos escoger además pieles maduras pero no envejecidas, pues suponíamos, como después se produjo, una mayor respuesta a la aplicación de los cosméticos. En principio la capacidad de alteración de las constantes mecánicas cutáneas en las pieles jóvenes parecen a priori insignificantes respecto a su alto valor absoluto, ya que poseen pieles muy turgentes y elásticas y la aplicación de un preparado dermatológico parecía tener poca trascendencia para ser apreciada.



De otra parte y justo por lo contrario, tampoco escogimos a mujeres con pieles muy maduras, pues de igual forma ponderamos que la escasa turgencia y elasticidad de las pieles envejecidas, no debían verse muy afectadas/mejoradas por la aplicación de un preparado dermatológico.

Así, la selección de voluntarios panelistas se hizo según los criterios de inclusión y exclusión que se describen a continuación. Ninguna voluntaria abandonó el estudio.

## 2) Criterios de inclusión

- Raza: caucásica.
- Edad: entre 30 a 60 años.
- Estado de salud: ausencia de enfermedad antes del estudio.
- Conocimiento del idioma español.
- Fácilmente contactable.
- Todos los tipos de piel

## 3) Criterios de exclusión

- Voluntarios que no cumplen los criterios de inclusión del punto anterior.
- Embarazadas y madres lactantes.
- Voluntarios afectados por enfermedades de piel temporales o crónicas.
- Voluntarios con intolerancia a medicamentos, productos cosméticos, etc.

## 4) Criterios de eliminación

Cualquiera de las razones siguientes se considera causa suficiente para interrumpir la participación del voluntario en el estudio:

- Falta de comunicación del voluntario por cualquier razón
- Opción libre por parte del voluntario
- Razones médicas que no tienen relación con el test: operaciones, enfermedades, etc.
- Reacciones irritantes o alérgicas debidas al preparado dermatológico probado
- Restricciones: durante la realización del test y las tres semanas anteriores de la prueba, los voluntarios no deben usar ningún otro producto en las áreas a testar.

## **LAS SALES DE LA CAPUCHINA**

Las aguas termales de del Balneario de Lanjarón-Capuchina, de fuerte mineralización, generan un barro salino por sedimentación y evaporación de CO<sub>2</sub>.

Se extraen de una pequeña mina abovedada de unos 2 metros de profundidad interior por 1,5 de alto aproximadamente, construida en basta mampostería de travertinos, que conforma hacia el exterior un espacio abocinado (Figura 1). El acceso a su interior se ve cerrado mediante cancela de hierro. Al rezumar el agua por su interior, esta es conducida subterráneamente hacia la caseta construida ex profeso algo más abajo, que es donde en realidad se dispensa.



**Figura 2: Gruta del manantial de La Capuchina-Lanjarón**

El agua es recogida en bidones de acero inoxidable y es aireada hasta la total sedimentación, eliminando el sobrenadante y decantándose las sales.

El residuo así como tal es un barro sin madurar de las sales de capuchina. El uso de peloides en balneoterapia<sup>7374</sup> es una técnica tradicional de los balnearios, coadyuvante en el tratamiento de enfermedades crónicas o a disminuir las dosis de fármacos.

---

<sup>73</sup> van Tubergen A, van der Linden S. A brief history of spa therapy. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 273–275

<sup>74</sup> Gomes C, Carretero MI, Pozo M, Maraver F, Cantista P, Armijo F, et al. Peloids and pelotherapy: Historical evolution, classification and glossary. *Appl Clay Sci.* 2013; 75-76:28-38.

El comportamiento térmico de los peloides es uno de los caracteres más importantes para su empleo como herramienta terapéutica, habiéndose demostrado una relación directa entre la colocación del peloide sobre la piel y una actividad terapéutica. Además se han demostrado otras actividades farmacológicas, derivadas de su transformación tras un periodo de maduración.<sup>75</sup>

El proceso conocido como maduración de los peloides, es necesario en algunas ocasiones para mejorar y estabilizar su propiedades terapéuticas.<sup>76</sup>

La maduración es un proceso complejo, dependiente de las fases sólida y líquida del peloide que maduran modificándose gracias a la temperatura, el tiempo, pH, contenido de agua y su homogenización. Se alteran las características físicas y químicas del fango, incrementando su volumen de rehidratación y las propiedades térmicas, así mismo, se producen nuevos productos originados por el metabolismo de algunos microorganismos que colonizan las aguas. Además existe una relación directa entre la maduración del peloide y la capacidad de intercambio de cationes.<sup>77</sup> Estos cambios en el peloide se consideran responsables de su actividad antiinflamatoria.<sup>78</sup>

Para tal maduración se emplean tiempos muy variables, entre 60 días y 2 años. En nuestra investigación el peloide se empleó fresco, sin madurar y como

---

<sup>75</sup> Legido JL, Medina C, Mourelle ML, Carretero MI, Pozo M. Comparative study of the cooling rates of bentonite, sepiolite and common clays for their use in pelotherapy. *Appl Clay Sci* 2007; 36: 148-160

<sup>76</sup> Sánchez C, Parras J, Carretero MI. The effect of maturation upon the mineralogical and physicochemical properties of illitic-smectitic clays for pelotherapy. *Clay Minerals* 2002; 37, 457-463

<sup>77</sup> Fernández-González MV, Martín-García JM, Delgado G, Párraga J, Delgado R. A study of the chemical, mineralogical and physicochemical properties of peloids prepared with two medicinal mineral waters from Lanjarón Spa (Granada, Spain). *Appl Clay Sci*. 2013; 80-81: 107-116

<sup>78</sup> Fernández-González MV, Gámiz E, Martín-García JM, Márquez R, Delgado G, Delgado R. Comportamiento térmico de peloides preparados con aguas mineromedicinales del Balneario de Lanjarón. Efecto del tiempo de maduración. *An Hidrol Med*. 2011; 4: 93-105

tal fue incorporado a los preparados dermatológicos, si bien existen estudios que determinan el cambio de sus propiedades en función de su grado de madurez.<sup>79</sup>

En ella se encuentran también trazas no despreciables de magnesio y litio. Por todo ello, el peloide de las aguas de este manantial parece ideal en el tratamiento tópico de todo tipo de pieles sensibles que tengan necesidad de renovación celular.

## **FORMULACIONES EMPLEADAS**

Se emplearon para la experiencia una emulsión a base de sales de Capuchina y una máscara en gel, también a base de sales de Capuchina cuya, composición cualitativa se muestra en la tabla adjunta.

Los voluntarios emplearon como solución limpiadora una mezcla tensioactiva cuya composición se muestra en la Tabla 2. Los voluntarios no se aplicaron otros cosméticos ni preparados tópicos durante la experiencia, aunque se les permitió el empleo de cosméticos decorativos de ojos y labios y colorete en polvo.

---

<sup>79</sup> Delgado R, Fernández-González MV, Gámiz E, Martín-García JM, Márquez R, Delgado G. Evolución de la ultramicrofábrica de los peloides en el proceso de maduración. An Hidrol Med. 2011; 4: 81-91

EMULSIÓN HIDRATANTE LANJARÓN
Aqua, Aqua (Capuchina Spring Water), Paraffinum Liquidum, Pentyleneglycol, Petrolatum, Glycerin, Propileneglycol, Stearici Acid, Cetearyl Alcohol, Cetearyl Ethylhexanoate, Dimethicone, Cyclopentasiloxane, Sales (Capuchina Sales), Isoparaffin, Carbomer, Polyacrylamide, Triethanolamine, Ethylhexylglycerin, Cetareth-12, Diethylhexyl Adipate, Amonium Lactate, Cetyl Alcohol, Parfum, Benzyl Salicilate, Citronellol, Geraniol, Hexylcinnamic Aldehyde, Limonene, Linalool, Laureth-7, Sodium Chloride
MÁSCARA FACIAL LANJARÓN
Aqua, Aqua (Capuchina Spring Water), Sales (Capuchina Sales), Hydroxyethyl Acrylate/Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer, Propylene Glycol, Glycerin, Peg-8, Pentylene Glycol, Polysorbate 20, Ethylhexyl Glycerin, Parfum, Benzyl Salicilate, Citronellol, Geraniol, Hexylcinnamic Aldehyde, Limonene, Linalool.
GEL LIMPIADOR TENSIOACTIVO
Aqua, Polysorbate 20, Pentyleneglycol, Triethanolamine, Carbomer, Ethylhexylglycerin, Parfum, Benzyl Salicilate, Citronellol, Geraniol, Hexylcinnamic Aldehyde, Limonene, Linalool, Sodium Chloride

**Tabla 1: Composición cualitativa de los preparados dermatológicos empleados.**

## **EMULSIÓN HIDRATANTE**

Elaborada con agua isotónica emulsionada (0,20%) del manantial de La Capuchina especialmente formulada para conseguir una hidratación emoliente del rostro.

Deberá aplicarse diariamente en la higiene facial sobre la piel limpia con un

suave masaje hasta total absorción.

La emulsión está indicada en la hidratación facial diaria de todo tipo de pieles, incluso en aquellas que presentan un cierto grado de intolerancia a los preparados dermatológicos.

Se prescribe en la hidratación facial diaria matutina tras la limpieza.

Características del producto:

1. Recipientes:

- a. Material: cristal
- b. Forma: tarro 50 ml
- c. Color: translúcido
- d. Tapón: color aluminio, sellado de seguridad

2. Muestra: ref. lote prueba

3. Especificaciones:

- a. Aspecto: crema/gel consistente
- b. Color: anaranjado pálido
- c. Olor: característico/perfume

## **MÁSCARA FACIAL**

Formulada con agua hipertónica (3,00%) del manantial de La Capuchina, especialmente formulada para realizar un tratamiento *antiaging* de choque. Se aplicará una vez a la semana sobre piel perfectamente limpia.

Se aplicó con un suave masaje o con la ayuda de un pincel, una capa generosa de la máscara facial de Capuchina, dejándola actuar 20 minutos y será finalmente retirada con agua.

La máscara está indicada en todo tipo de pieles que necesiten una renovación celular intensa. Proporciona luminosidad al rostro y produce un ligero blanqueamiento de la piel. Indicado como concentrado antiarrugas/antienvejecimiento.

1. Recipientes:

- a. Material: cristal
- b. Forma: tarro 30 ml
- c. Color: translúcido
- d. Tapón: color aluminio, sellado de seguridad

2. Muestra: ref. lote prueba

3. Especificaciones:

- a. Aspecto: gel consistente semitransparente
- b. Color: anaranjado
- c. Olor: característico/perfume

## **DETERMINACIONES DE INOCUIDAD<sup>80</sup>**

Se valoró la inocuidad de los preparados dermatológicos, incluso en condiciones reales de empleo, así como se determinó la seguridad y la complacencia cosmética de las dos referencias cosméticas.

El propósito del Real decreto de Cosméticos nº 1599/1997 y sus posteriores modificaciones y transposiciones de directivas de la UE, especialmente el RD 209/2005, de 25 de febrero, es proteger al consumidor, aumentar y mejorar la calidad de vida, así como eliminar las barreras

---

<sup>80</sup> Carbajo JM. Cosmética Osmótica del balneario de Lanjarón. An Hidrol Med. 2007; 2: 47-64



comerciales, logrando reglamentaciones armonizadas sobre las condiciones para comercializar y emplear los productos cosméticos. El legislador tiene la responsabilidad de vigilar la idoneidad de los productos cosméticos en el mercado. Este debe tener las características siguientes: debe ser eficaz, sus ingredientes deben tener baja toxicidad, ser seguros y poseer baja capacidad irritante y sensibilizante cutánea y/o ocular.

Se exigen datos en toxicidad dérmica primaria para apoyar el uso de los cosméticos y deben realizarse:

- Ensayos de potencial agudo irritante/sensibilizante
- Ensayos de compatibilidad cutánea a largo plazo
- Ensayos de potencial agudo y crónico irritante/sensibilizante sobre la mucosa ocular u otras mucosas en el caso de aplicaciones específicas

Estos estudios se realizaron bajo las directrices de la "Guía de Buenas Prácticas Clínicas (CPMP/ICH/135/95)" y la Declaración de Helsinki: "Principios éticos para investigaciones medicas en seres humanos" (Seúl 2008) de la Asociación Médica Mundial, así como los principios establecidos por las Directrices para la Buena Práctica Clínica en lo que respecta a medicamentos en investigación de uso humano, Directiva 2005/28/CE.

Los datos personales de los pacientes que fueron recopilados fueron confidenciales y están protegidos por la Ley Orgánica Española 15/1999: "Protección de Datos de Carácter Personal" de 13 de diciembre de 1999". Los voluntarios o pacientes no dieron su consentimiento para la publicación de los

mismos.

Las definiciones en Good Laboratory Practice Standards (GLP) aplicadas a este test toxicológico sobre cosméticos son:

- *Corrosión cutánea*: producción de daño cutáneo irreversible tras la aplicación tópica de la sustancia.
- *Irritación cutánea*: producción de cambios inflamatorios cutáneos tras la aplicación tópica de la sustancia.
- *Sensibilización cutánea*: producción de una dermatitis cutánea alérgica reversible tras la aplicación de la sustancia.
- *Efecto farmacológico*: cualquier cambio fisiológico inducido en el sujeto voluntario.
- *Órgano diana*: cualquier órgano del sujeto voluntario que muestra evidencias de algún efecto tras la aplicación de la sustancia.

Se valoró la irritación aguda a través de Patch Test y la compatibilidad cutánea a largo plazo a través de In-Use Test. La complacencia cosmética se determinó durante el In-Use Test, en condiciones reales de empleo, como resultado de la observación de las pieles tratadas y en especial de la encuesta de complacencia cosmética que rellenó cada panelista voluntario.

## **PATCH TEST**

Los test de contacto con alergenicos son técnicas sencillas y objetivas que se emplean en algunos procesos de diagnóstico. Estos test permiten obtener una predicción de la respuesta irritante/sensibilizante de las distintas sustancias que se confirman por la producción de una Dermatitis de Contacto Alérgica (**DCA**) y/o una Dermatitis de Contacto Irritativa (**DCI**). Si el monitor es capaz de determinar la naturaleza e intensidad de esta respuesta, el fabricante puede

tener un parámetro fiable sobre la toxicidad de sus productos.

Los test deben realizarse y escogerse en función de la naturaleza de la sustancia y el tiempo de contacto con la piel. La sustancia a ser testada se aplicará en una o varias dosis y tendrá que ser aplicada a un mínimo de 30 voluntarios sanos. Cada voluntario sirve como su propio autocontrol, excepto en el caso de severa irritación y/o corrosión cutánea que es excluido. El grado de irritación se evalúa en intervalos específicos hasta la completa evaluación de los mismos. La duración del estudio tiene que ser el suficiente para permitir la evaluación completa del producto y la reversibilidad de los efectos observados. En cualquier caso no excederá los 14 días.

### Materiales

Los preparados dermatológicos se pusieron en contacto con la piel a través de una pequeña cazuela de aluminio denominada Finn Chamber. La cámara Finn Chamber es un dispositivo de prueba de parche que proporciona intensa oclusión debido a su impermeabilidad. Es una cámara de aluminio, con 8 mm el diámetro interno que proporciona un área de 50 mm<sup>2</sup> y aproximadamente 20 µL de volumen. Finn Chambers está montada sobre un adhesivo Scanpor™ de Alpharma AS (Norgesplaster Facility, Noruega) con protector de adherente que se elimina con comodidad.

La muestra se usó sin diluir en el test. 20 µL del preparado dermatológico puro se colocaron en la cámara Finn para realizar el test. Los parches se colocaron sobre los voluntarios a temperatura ambiente. Un parche Finn Chamber se aplicó vacío como control.

## **IN USE TEST**

Consiste en una modificación del ROAT (Repeated Open Application Test): test abierto de aplicación repetida que suele emplearse para preparados dermatológicos de aplicación muy frecuente y en caso de dudas con el Patch Test.

En el ROAT la sustancia se aplica en la parte interna/superior del antebrazo dos veces al día durante una semana. En caso de DCA se desarrolla a los pocos días una reacción seca y papulosa. La DCI se determinará por la lectura visual 30 min. y 48 horas después de la última aplicación. La no aparición de lesiones inflamatorias cutáneas determinará su compatibilidad cutánea.

En el caso del In Use Test el cosmético se aplica en la zona destinada a su empleo y a la dosis prevista por el fabricante, aunque la duración del mismo se dilata a unos 30 días.

El test de uso se realizó con ambos productos y para la determinación de In Use Test, los productos se aplicaron en las condiciones de uso establecidas por los fabricantes. No se establecieron dosis estándar. Las dosis de empleo fueron fijadas arbitrariamente por los voluntarios en función de las instrucciones de uso del fabricante. Cada voluntario aplicó los distintos productos en función de su propio criterio tras lectura y entrega por escrito de las instrucciones de empleo.

## **DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA**

Los voluntarios se aplicaron diariamente sobre el rostro una Emulsión Hidratante del Balneario de Lanjarón tras la higiene matutina y nocturna, y

una vez a la semana se aplicaron durante 20 minutos una Máscara Facial del Balneario de Lanjarón.

## DETERMINACIÓN DEL SEBO CUTÁNEO

La determinación del sebo cutáneo se realiza en unidades arbitrarias con un *Sebumeter SM 815 (CK electronics, Germany)*. El principio de medición es a través de un método fotométrico, que no es sensible a la humedad, aunque requiere ser riguroso en las determinaciones.<sup>81</sup>

Los lípidos cutáneos tienen un doble origen, los excretados por la glándula sebácea y los restos lipídicos procedentes del cemento intercorneal, ceramidas, colesterol y ácidos grasos, que se depositan sobre la superficie cutánea por la desnaturalización y renovación de los corneocitos y el cemento intercorneal de los estratos más superficiales de la piel.

La cantidad y composición de los lípidos cutáneos influyen notablemente, no sólo en el aspecto externo de la piel, sino en el tipo de piel y en la presencia o no de algunas patologías cutáneas. Se ha establecido una correlación proporcional entre la secreción de sebo, una disminución de la elasticidad cutánea, especialmente entre el parámetro R7 de cutometría y el aumento de la visión de los poros, principalmente en hombres.<sup>82</sup>

En la pubertad, se describen cuadros hiperseborreicos, y acneicos que proporcionan a la piel un aspecto untuoso y brillante. El nivel de sebo ha

---

<sup>81</sup> Piérard GE, Piérard-Franchimont C, Marks R, Paye M, Rogiers V. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin greasiness. The EEMCO Group. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2000; 13(6): 372-89

<sup>82</sup> Kim BY, Choi JW, Park KC, Youn SW. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference - which is the major influencing factor for facial pores? *Skin Res Technol*. 2013; 19(1): 45-53

demostrado correlación positiva con el número de lesiones de acné. El nivel de sebo tiene una influencia notable sobre el número de lesiones inflamatorias, especialmente en la zona-U en los pacientes más jóvenes, mientras que los pacientes con acné de mayor edad, tienen una correlación con la zona T. Los varones tuvieron siempre mayor incidencia que las hembras.<sup>83</sup>

Ha de hacerse notar que se ha demostrado que el diagnóstico del tipo de piel efectuado de una forma subjetiva, no tiene por qué coincidir con la cantidad de sebo segregado. Por lo tanto la clasificación simple y subjetiva, que es la común, tiene un uso muy limitado y debe ser re-evaluada mediante el uso de una herramienta de medición objetiva y estandarizada como es el sebumeter.<sup>84</sup>

La función de barrera depende del nivel de maduración de los corneocitos, así como la cantidad de sebo. Se ha demostrado la existencia de una relación entre el tipo de piel, los hábitos de cuidado cutáneo y la función de la piel.

Los hombres, que no suelen cuidarse la piel a diario, tienen un valor significativamente mayor de sebo y sorprendentemente, una pérdida de agua transepidérmica también mayor. Ello indica que la piel masculina tiene dos características específicas: tienen la función de barrera deteriorada debido a la cantidad excesiva de sebo y, por la falta de higiene facial diaria, una mayor "sensación pegajosa" de su piel.<sup>85</sup>

---

<sup>83</sup> Choi CW, Choi JW, Park KC, Youn SW. Facial sebum affects the development of acne, especially the distribution of inflammatory acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011; 27(3): 301-6

<sup>84</sup> Youn SW, Kim SJ, Hwang IA, Park KC. Evaluation of facial skin type by sebum secretion: discrepancies between subjective descriptions and sebum secretion. *Skin Res Technol*. 2002; 8(3):168-72

<sup>85</sup> Mizukoshi K, Akamatsu H. The investigation of the skin characteristics of males focusing on gender differences, skin perception, and skin care habits. *Skin Res Technol*. 2013; 19(2): 91-9

Como es conocido, en la senectud desciende la proporción de lípidos. Ello puede conducir a la aparición de alípiá que condiciona un menor espesor cutáneo y una mayor tendencia a la irritación, así como a una sensibilidad pronunciada a infecciones bacterianas y fúngicas, entre otras posibles alteraciones.

Aunque hasta los 50 años la pérdida transepidérmica de agua en los hombres es menor que en las mujeres en cualquier ubicación corporal, con el envejecimiento las diferencias se aproximan. Los hombres jóvenes muestran mayor hidratación del estrato córneo que las mujeres jóvenes. Pero, mientras que la hidratación del estrato córneo se mantiene estable o incluso aumenta en las mujeres durante toda la vida, en los hombres disminuye progresivamente, especialmente a partir de los 40. Ello es debido a que la producción de sebo en la piel masculina es siempre más alta y se mantiene estable con la edad, mientras que la producción de sebo en las mujeres disminuye progresivamente durante toda la vida. De otra parte, en todas las localizaciones y grupos de edad, el valor de pH en los hombres es inferior a 5, el valor del pH de las mujeres es superior a 5.

Por todo ello es claro que existen distinciones fisiológicas en la piel entre los sexos, y son especialmente notables en cuanto a la producción de sebo y el valor de pH.<sup>86</sup>

Mientras que la hidratación (TEWL y humedad) suele mostrar una correlación muy baja con la edad del sujeto, la producción de sebo disminuye

---

<sup>86</sup> Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. Int J Cosmet Sci. 2013; 35(5):477-83

significativamente con la edad y lo hace de forma progresiva hasta los mayores de 70 años.

Así los resultados de Luebberding y col.<sup>87</sup> muestran que sólo algunos parámetros relacionados con la función barrera de la piel están influenciados por el envejecimiento. Consideran que la producción de sebo disminuye significativamente durante la vida, y el pH aumenta de manera significativa en la mujer menopáusica, mientras que la TEWL y la hidratación del estrato córneo mostrar sólo variaciones menores con el envejecimiento.

Es posible detectar técnicamente diferencias en la cuantificación de los lípidos presentes en la superficie de la piel (Figura 2), determinar la eficacia de un tratamiento cosmético, valorar un estado patológico o simplemente investigar la cantidad de lípidos sobre la superficie cutánea con ánimo científico. Uno de los dispositivos empleados para la determinación de la cantidad de sebo cutáneo es el Sebumeter® (Courage -Khazaka). Proporciona una adecuada medición, además, debido a su facilidad de uso y la velocidad de respuesta de tan sólo de 10 segundos, permite una rápida velocidad de medición.

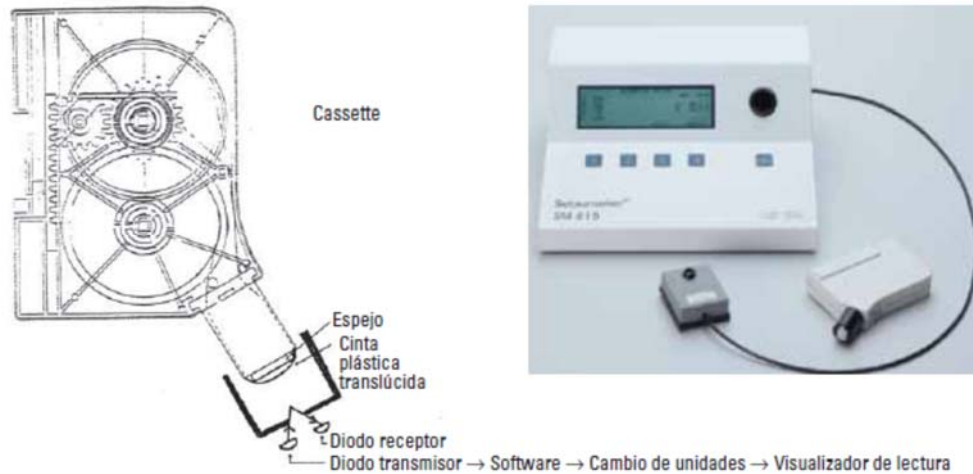
La base de la técnica es la lectura del grado de transparencia de una tira de plástico translúcida por un fotómetro, cuando es apoyada en unas condiciones determinadas sobre la superficie de la piel. De tal forma que dependiendo del mayor o menor contenido en grasa adherido al film, el fotómetro detectará más o menos transparencia y un programa informático lo traducirá

---

<sup>87</sup> Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Age-related changes in skin barrier function - quantitative evaluation of 150 female subjects. *Int J Cosmet Sci.* 2013; 35(2): 183-90



numéricamente.



**Figura 3: Sebumeter para determinar los lípidos superficiales totales.**

## DETERMINACIÓN DEL PH CUTÁNEO

En la experiencia el pH se determina a través de un *Skin pH-Meter PH 905* (CK electronics, Germany).

La determinación del pH permite establecer una de las propiedades más importantes de una solución acuosa: su grado de acidez o alcalinidad.

Dicho valor se encuentra determinado por la concentración de hidrógenoiones ( $H^+$ , protones) y de iones hidróxido ( $OH^-$ ).

De acuerdo con el criterio establecido en 1909 por Soren Sorensen, el pH es el logaritmo de la concentración molar de iones  $H^+$ :

$$pH = -\log [H^+]$$

y puede variar entre un valor de 0 (acidez muy fuerte) y 14 (alcalinidad extrema), encontrándose su punto medio (neutro) en 7.

La medición del pH se realiza principalmente mediante la introducción o el apoyo sobre la piel de un electrodo de cristal. Dicho electrodo lleva en su interior un tampón interno de mercurio/cloruro de mercurio ( $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) o de plata/cloruro de plata ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ), en donde la membrana de cristal separa y aísla el tampón interno de la solución que se quiere medir y se encarga de eliminar el potencial del lado interno de dicha membrana. Resulta de gran importancia que este electrodo interno pueda determinar un potencial eléctrico reproducible que no se vea influido por la solución que se quiere medir.

Otro electrodo denominado de referencia, se encarga de suprimir el potencial de la cara externa de la membrana de cristal, el que se mantiene en contacto con la solución medida. El electrodo de referencia contiene un electrolito y está equipado con un diafragma que asegura el transporte de iones entre la solución a medir y el tampón interno, evitando así la mezcla de las dos sustancias.

La variación eléctrica de los electrodos se monitoriza a través de un voltímetro, naturalmente mientras se encuentra el electrodo sumergido en la solución de medida, y así se registra la diferencia de potencial entre las dos partes del electrodo, que depende única y exclusivamente del pH de la solución a la que se va a determinar el pH.

Las secreciones acuosas de la piel, las únicas a las que se le puede

determinar el pH, están formadas principalmente por soluciones salinas, y por lo tanto una medición del pH se podrá efectuar directamente sobre la superficie de la piel si la humedecemos con agua destilada. El Skin-pHMeter® PH 905 permite obtener de manera rápida y sencilla valores pH de elevada precisión y exactitud.

Para nuestros fines, podemos determinar que la piel humana está compuesta por tres capas de tejido estratificado (del exterior al interior) en: estrato córneo, epidermis viable, y dermis.

El estrato córneo es una capa hidrofóbica de queratinocitos apilados ricos en proteínas unidas firmemente entre sí por los lípidos intercelulares. La superficie exterior del estrato córneo está recubierto por una emulsión formado por el sudor, que es hidrosoluble y contiene electrolitos, aminoácidos, sustancias nitrogenadas, entre otras, y los lípidos en menor cantidad, procedentes de cemento intercelular del estrato córneo y en su caso de la glándula sebácea.

En el pH de la superficie cutánea, influyen probablemente dos elementos, una vía endógena, como los ácidos fosfóricos libres, los ácidos grasos, los transportadores de sodio y probablemente la ruta histidina-urocánico, y una vía exógena, constituida por la secreción de sudor y sebo, así como los subproductos de su degradación y los contaminantes del ambiente.<sup>88</sup>

La emulsión epicutánea ayuda a mantener la integridad del estrato córneo

---

<sup>88</sup> Stefaniak AB, Plessis J, John SM, Eloff F, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner MFC, Kudla I, Holness DL. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: part 1. pH. Skin Res Technol. 2013; 19(2): 59-68

y su cohesión, la homeostasis epidérmica y el mantenimiento equilibrado de la flora microbiana.

Como se expuso en el apartado anterior de sebumetría, existe una diferencia estadísticamente significativa entre el pH de la piel entre los hombres (media de pH = 5,80) y de las mujeres (pH promedio = 5,54). El pH superficial femenino es más ácido que el masculino. No se encontraron diferencias entre el brazo derecho e izquierdo. En los hombres, la zona más cercana a la muñeca tenía valores de pH significativamente más bajos en comparación con los sitios proximales, aunque este no fue el caso en las mujeres. El pH de la superficie de la piel se redujo durante las horas normales de trabajo, en ambos géneros.<sup>89</sup>

Como se describió, el pH aumenta durante la vida y es mas alto entre 50 y 60 años, mientras que en personas más ancianas se registraron pH medios más bajos.

El pH de la superficie cutánea puede verse alterado por diversas patologías de la piel y pueden influir en la disolución/disociación de contaminantes cutáneos.<sup>90,91</sup> Sin embargo, en otras patologías, aun dándose alteraciones en la TEWL y en la humedad, no se han detectado alteraciones significativas del

---

<sup>89</sup> Ehlers C, Ivens UI, Møller ML, Senderovitz T, Serup J. Females have lower skin surface pH than men. A study on the surface of gender, forearm site variation, right/left difference and time of the day on the skin surface pH. *Skin Res Technol.* 2001; 7(2): 90-4

<sup>90</sup> Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol.* 2006; 19: 296-302

<sup>91</sup> Jungersted JM, Scheer H, Mempel M, Baurecht H, Cifuentes L, Hogh JK, Hellgren LI, Jemec GBE, Agner T, Weidinger S. Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. *Allergy.* 2010; 65: 911-918

pH.<sup>92</sup>

En la realidad el pH de la piel se registra mediante un dispositivo específico electroquímico, que no altera su ecología, sin ejercer ningún efecto colateral en la piel humana, evitando técnicas como las de los indicadores químicos, que pueden resultar inadecuados o nocivos para la salud.

El sistema sensor puede ser calibrado con facilidad por el usuario, el tiempo de medición es reducido a 1 segundo y el valor pH se muestra con dos decimales, lo que permite calificar a la técnica como ideal.

Las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) y el estado físico del paciente influyen poco en la determinación del pH cutáneo. No obstante el pH cutáneo puede verse alterado por una transpiración excesiva o por la aplicación de cosméticos, por lo que se habrán de considerar estos parámetros en los panelistas. La piel necesita alrededor de 5 horas para reconstituir su valor pH original después de haber eliminado los productos cosméticos.

Por todo ello, es recomendado el empleo de unas condiciones estándar al objeto de mejorar la reproductividad y significancia de los resultados. El pH de la piel se sospecha que desempeña un papel importante en el control de las actividades enzimáticas implicadas en el metabolismo celular y en la renovación del estrato córneo. Su valor se mantiene por varios sistemas, tales como el sudor y la secreción de sebo y su degradación, así como el

---

<sup>92</sup> Perusquía-Ortiz AM, Oji V, Sauerland MC, Tarinski T, Zaraeva I, Seller N, Metze D, Aufenvenne K, Hausser I, Traupe H. Complete filaggrin deficiency in ichthyosis vulgaris is associated with only moderate changes in epidermal permeability barrier function profile. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013 Dec;27(12):1552-8

metabolismo celular.

En la superficie de la piel, lo que se mide es la solución que es extraída del estrato córneo cuando es solubilizada por el agua que se aplica en la superficie. Así los valores de pH obtenidos en la superficie de un medio semi-hidrófobo como el estrato córneo, deben interpretarse con mucha cautela, ya que es obvio que los iones de hidrógeno no están en una solución pura en la superficie de la piel. Para una determinación correcta del pH de la superficie de la piel, se recomienda seguir un protocolo estricto de medición. Siempre en el mismo lugar, en individuos sanos (edad, sexo, tipo de piel), a la misma hora del día y en las mismas condiciones ambientales. Además, los sujetos deben recibir instrucciones precisas antes de la prueba, sobre todo en términos de procedimiento de higiene o el uso de productos tópicos. La interpretación de los datos no debe pasar por alto el hecho de que incluso pequeñas diferencias en el pH, pueden reflejar modificaciones significativas en el nivel molecular.

Aunque es general que el pH de la superficie de la piel puede influir en la microflora cutánea, aún queda mucho por aprender sobre el papel del manto ácido de la piel con respecto a las defensinas y otros mecanismos de protección.<sup>93</sup>

## **DETERMINACIÓN DE LA FUNCIÓN BARRERA**

La pérdida de agua transepidérmica (PTEA o TEWL-*Trans Epidermal Water Loss*) evaluada a través del sistema *Tewameter TM 210 (CK electronics, Germany)* es considerada como un indicador de las funciones de “barrera

---

<sup>93</sup> Parra JL, Paye M; EEMCO Group. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2003; 16(3): 188-202

cutánea” de la piel en las siguientes unidades g/h/cm<sup>2</sup>.<sup>94</sup>

La técnica determina un fenómeno mixto de difusión pasiva de agua a través de la piel y de perspiración insensible que, en definitiva, se integran en unos valores de masa o volumen de agua evaporada a través de la superficie cutánea en la unidad tiempo.

La función barrera cutánea viene determinada fundamentalmente por la ausencia de evaporación de agua de la piel a través del estrato córneo. Como se ha determinado con anterioridad, la cantidad y calidad del sebo cutáneo y el pH pueden llegar a ser determinantes sobre el mismo, pero la estructura y tamaño de los corneocitos también juega una notable importancia.

Se sabe también que varias proteasas están implicadas tanto en la descamación de la piel normal como en los procesos inflamatorios de la piel. La alteración en la actividad de estas proteasas también debería afectar la madurez de los corneocitos y su tamaño, así como el grosor de estrato córneo.

Se ha demostrado que los lugares anatómicos donde los corneocitos son más grandes y más maduros se asocian a valores de TEWL inferiores. Contrariamente, las zonas de la piel con los corneocitos más pequeños tienen un menor número de capas de células, con mayor capacidad de permeación y consecuentemente valores de TEWL más altas.

Mohammed y col.<sup>95</sup> estudiaron la relación de tamaño del corneocito/TEWL

---

<sup>94</sup> du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner M, Franken A, Kudla I, Holness L. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. Skin Res Technol. 2013; 19(3): 265-78

<sup>95</sup> Mohammed D, Matts PJ, Hadgraft J, Lane ME. Variation of stratum corneum biophysical and molecular properties with anatomic site. AAPS J. 2012; 14(4): 806-12

en la mejilla, abdomen, muñeca y parte media ventral del antebrazo, determinando que los valores de TEWL fueron más altos principalmente para la mejilla y muñecas, y que el contenido en proteínas menor se obtuvo en el estrato córneo de las muñecas. Igualmente la madurez y la superficie de los corneocitos fueron significativamente menores en la mejilla y muñeca en comparación con otros sitios. Por todo ello la evaporación de agua en estas zonas es francamente menor y se confirma la hipótesis que relaciona la TEWL con el tamaño y madurez del corneocito.

En este sentido se ha postulado también que los procesos descamativos originan un aumento de la TEWL por la disminución del tamaño del corneocito, pues los niveles de sebo, proteínas y grado de humedad, tras el proceso descamativo cutáneo, se recuperan a las 24 horas las primeras y tras una semana las dos segundas, mientras que han de transcurrir unas 4 semanas para que el corneocito adquiera su tamaño original.<sup>96</sup>

Existen multitud de estudios que indican que los diferentes tipos de piel tienen desiguales niveles de hidratación<sup>97</sup> y distinta función barrera cutánea,<sup>98</sup> cuando son determinados por conductometría y por calibración de la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) respectivamente.

Muchos otros estudios demuestran que la hidratación y la TEWL dependen de la edad, pero las cifras absolutas siempre están vinculadas al componente

---

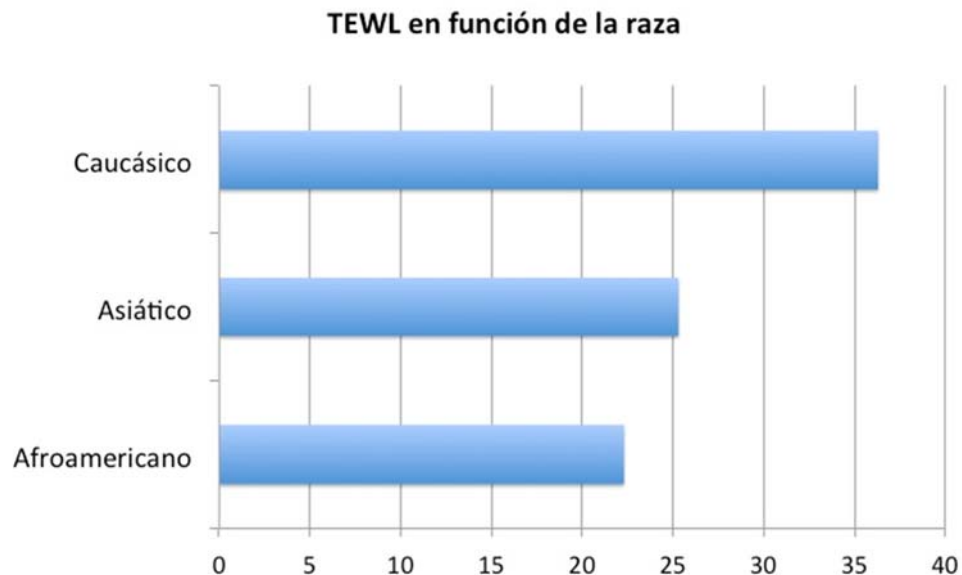
<sup>96</sup> Gorcea M, Hadgraft J, Lane ME, Moore DJ. In vivo barrier challenge and long-term recovery in human facial skin. *Int J Cosmet Sci* 2013; 35(3): 250-6

<sup>97</sup> Diridollou S, de Rigal J, Querleux B, Leroy F, Holloway Barbosa V. Comparative study of the hydration of the stratum corneum between four ethnic groups: influence of age. *Int J Dermatol*. 2007; 46 Suppl 1: 11-4

<sup>98</sup> Wilson D, Berardesca E, Maibach HI. In vitro transepidermal water loss: differences between black and white human skin. *Br J Dermatol* 1988; 119: 647-52



racial como se muestra en el Gráfico 12.<sup>99</sup>



**Gráfico 12: Correlación de pérdida transepidérmica en función de la raza**

Todo ello sin menospreciar la importancia de una correcta formación del cemento intercorneal<sup>100</sup> o la presencia de moléculas irritantes de la vida diaria que modifiquen el factor hidratante natural (NMF).

La aplicación reiterada de irritantes afecta a la composición del NMF, especialmente sus componentes derivados del sudor y del ciclo de la urea, siendo menos afectados los componentes que derivan de la degradación de la filagrina y/o de la proteína S-100. Se han demostrado aumentos en la concentración en lactatos, ornitina y urea, y no se encontraron diferencias en

---

<sup>99</sup> Pappas A, Fantasia J, Chen T. Age and ethnic variations in sebaceous lipids. *Dermatoendocrinol.* 2013; 5(2):3 19-24

<sup>100</sup> van Smeden J, Janssens M, Gooris GS, Bouwstra JA. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. *Biochim Biophys* Available online 16 November 2013

los niveles de prolina.<sup>101</sup>

Por todo ello, la determinación de la pérdida de agua transepidérmica constituye un parámetro esencial para la determinación de la piel eudérmica y la distinguirla de la patológica. Asimismo la evaporimetría es capaz de predecir la capacidad irritante de los preparados tópicos.<sup>102</sup> Dispositivos como el Tewameter son esenciales en los estudios sobre la ecología cutánea.

Fundamento físico de este tipo de mediciones es una ley de difusión establecida por Adolf Fick en 1885:

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

donde:

A = superficie en m<sup>2</sup>

m = transporte de agua (en g)

t = tiempo (h)

D = constante de difusión (=0.0877 g/m·h·mm Hg)

p = presión de vapor atmosférica (mm Hg)

x = distancia desde la piel al punto de medición (m)

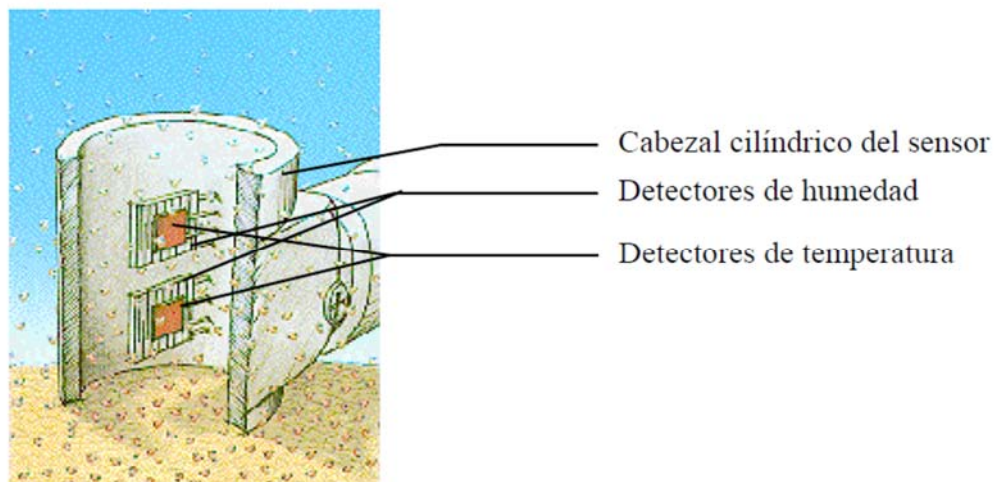
---

<sup>101</sup> Hoffman DR, Kroll LM, Basehoar A, Reece B, Cunningham CT, Koenig DW. Immediate and extended effects of sodium lauryl sulphate exposure on stratum corneum natural moisturizing factor. *Int J Cosmet Sci.* 2013 Oct 24. doi: 10.1111/ics.12101

<sup>102</sup> Vozmediano JM, Carbajo JM, Franco R, Milán VJ, Padilla M, Sarmiento C. Evaluation of the irritant capacity of decyl polyglucoside. *Int J Cosmet Sci.* 2000; 22(1): 73-81

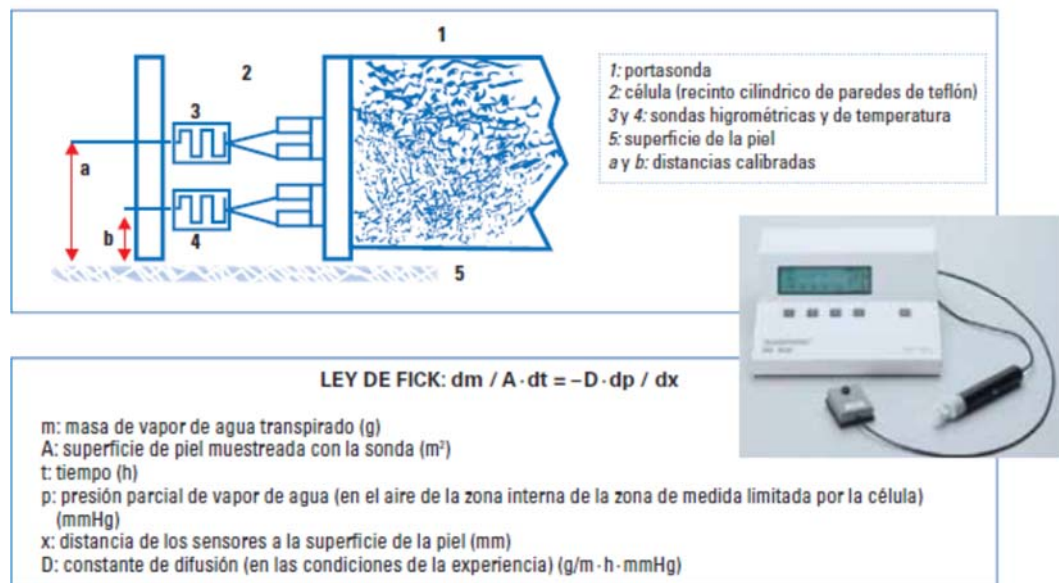
La ley de difusión  $dm/dt$  indica la masa por  $cm^2$  transportada en un intervalo de tiempo, la cual es proporcional al área  $A$  y a la variación en la concentración por distancia  $dc/dx$ .  $D$  representa el coeficiente de difusión de vapor de agua en el aire.

Esta ley posee validez únicamente dentro de una zona de difusión homogénea, que tiene la forma aproximada de un cilindro hueco. El gradiente de densidad resultante es registrado de forma indirecta por dos parejas de sensores de temperatura y humedad relativa, que son interpretados por un microprocesador.



**Figura 4: Corte transversal del cilindro de la sonda del Tewameter.**

Los detectores de temperatura e humedad, igual que la circuitería para las mediciones y los datos de calibración, se encuentran alojados en la parte interna del sensor. El cabezal de mediciones del sensor está formado por un cilindro hueco y estrecho (diámetro=10 mm, longitud=20 mm) cuya función consiste en reducir la turbulencia del aire dentro del sensor (Figura 3).



**Figura 5: Sistema Tewameter.**

El Tewameter es de los dispositivos denominados de “circuito abierto” en razón de su simplicidad y rapidez de lectura (estabilización del sistema: aproximadamente 1 minuto + integración de datos durante 2-3 minutos) (Figura 4).

El software aplica la ley de Fick a los datos de evaporación medidos y expresa los resultados en unidades de “transporte de agua” (mg agua evaporada/m<sup>2</sup> de piel · h).

## DETERMINACIÓN DE LA VISCOELASTICIDAD CUTÁNEA

Los indicadores biomecánicos de la piel se obtuvieron a través de un dispositivo que emplea un método de succión cutánea (*Cutometer MPA 850 de CK electronics, Germany*) que permite determinar los parámetros viscoelásticos de la misma (Figura 5).



**Figura 6: Cutometer MPA 580 con (de izquierda a derecha) sensor de cutometría, tewametría, corneometría, pH, reviscometría y cartucho del sebumeter.**

El dispositivo Cutometer® MPA 580 tiene una bomba de vacío para realizar la succión y puede conectar además las 4 sondas adicionales de las que disponemos para este trabajo de:

- Sensor para el *Skin-pH-Meter® PH 905*: valores del pH cutáneo
- Sensor para *Tewameter® TM 300*: pérdida de humedad transepidérmica (TEWL)
- Sensor para *Reviscometer® RV 600*: elasticidad y dirección de las fibras de colágeno y elastina
- Sensor de condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa).

Cuando está conectado, el sensor introduce sus valores directamente en el programa, que los memoriza junto con los datos de las mediciones y permite el control de las condiciones ambientales.

El cutometer es un dispositivo que determina la visco-elasticidad de la capa más superficial de la piel, usando una bomba de vacío que produce una deformación mecánica negativa. La bomba de vacío tiene programado un tiempo de succión que absorbe a la piel al interior de la sonda de medición y posteriormente la suspende, momento en el que la piel vuelve de manera espontánea a su posición normal a través de la apertura de la sonda. Todo ello, de una manera fácil y simple.<sup>103</sup>

A través de estos fenómenos pueden ser calculados parámetros como elasticidad, plasticidad y viscoelasticidad.<sup>104</sup>

Se define elasticidad como a la capacidad de un cuerpo o material, la piel en este caso, de volver a recuperarse al dejar de aplicar una fuerza que lo ha deformado. Un globo es el mejor ejemplo, que cuando se presiona para cambiar su superficie y se deja de hacerlo vuelve a su forma original. Esto significa que posee una elasticidad del 100%.<sup>105</sup>

La plasticidad es lo opuesto a la elasticidad. Quizás la plastilina es el mejor ejemplo de elemento plástico, ya que al ejercerle presión se deforma y al dejar

---

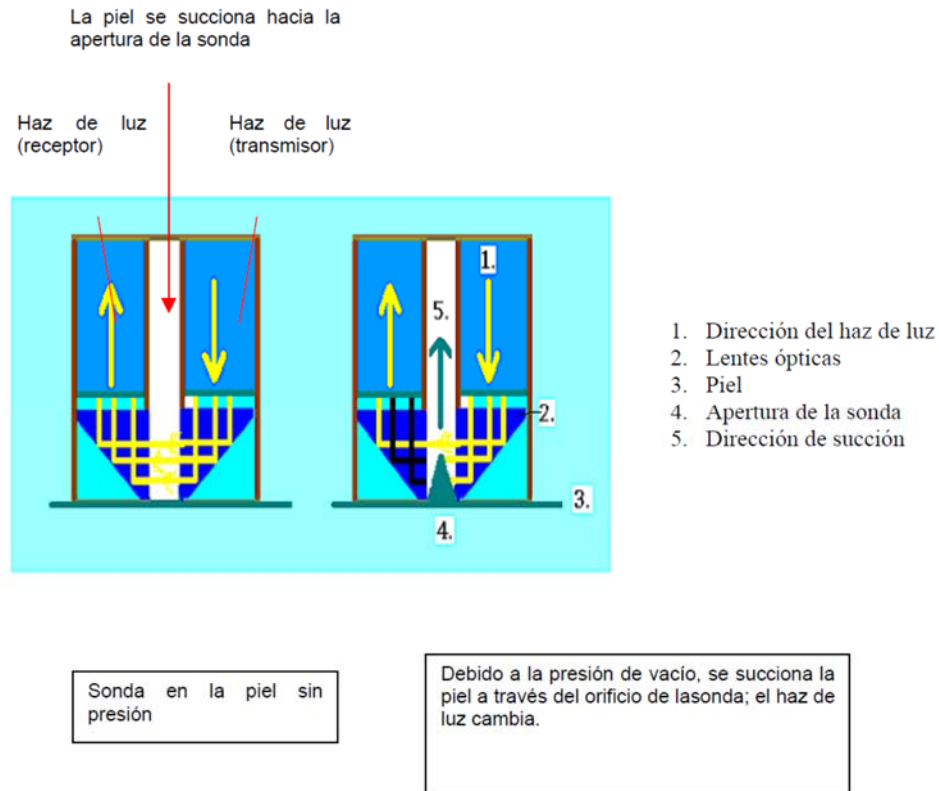
<sup>103</sup> Sandford E, Chen Y, Hunter I, Hillebrand G, Jones L. Capturing skin properties from dynamic mechanical analyses. *Skin Res Technol.* 2013; 19(1): 339-48

<sup>104</sup> Piérard GE, Piérard S, Delvenne P, Piérard-Franchimont C. In vivo evaluation of the skin tensile strength by the suction method: pilot study coping with hysteresis and creep extension. *ISRN Dermatology* 2013, Article ID 841217

<sup>105</sup> Piérard GE. EEMCO guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 1: relevance to the structures and ageing of the skin and subcutaneous tissues. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 1999; 12(6):352-62

de hacer fuerza no recupera su forma original.

La piel no es ni absolutamente elástica (como un globo) ni claramente plástica (como la plastilina), por lo que se habla de la viscoelasticidad de la piel.

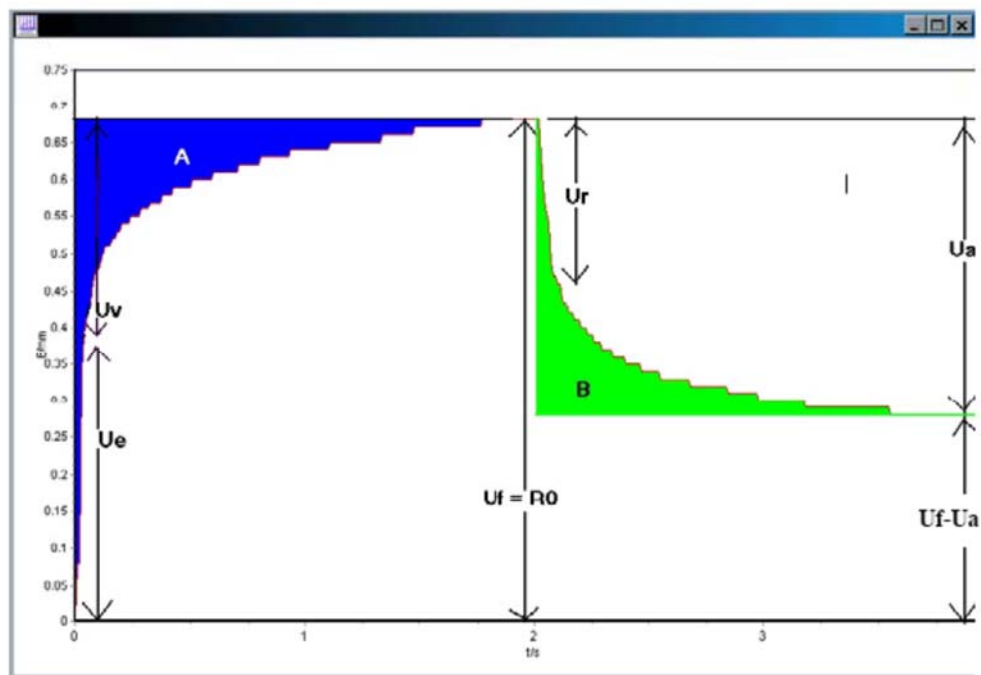


**Gráfico 13: Esquema de cabezal de sonda de Cutometer.**

El principio de medición del cutometer es la succión mecánica. Se succiona la piel a través de una pequeña abertura de la sonda de 2 mm de diámetro (opcionalmente también 4, 6 y 8 mm) con una presión determinada (Gráfico 13). Las lentes ópticas de medición integrada son capaces de medir la profundidad de absorción de la piel en la sonda. Las imágenes siguientes muestran el principio de medición del Cutometer. Hay dos lentes a izquierda y derecha de la apertura que envían un haz de luz del emisor al receptor. Cuando se succiona la piel la luz recibida disminuye. El cambio en la intensidad de luz se transforma en profundidad.

El Gráfico 14 describe las características viscoelásticas de la piel representando la deformación frente al tiempo. A diferencia del correspondiente a un material completamente elástico como el de un globo, el gráfico de la piel está formado por dos partes muy diferenciadas, una etapa de succión (azul) y otra de relajación (verde).

En la primera parte de la etapa de succión (azul) la pendiente de la curva es prácticamente vertical hasta que la curva experimenta un aplanamiento gradual hasta alcanzar un máximo al final de la etapa de succión.



**Gráfico 14: Deformación de la piel vs tiempo. Curva-tipo de cutometría con las principales variables en estudio.**

La primera parte del gráfico azul es el componente de elasticidad, definido en la literatura profesional en términos de  $U_e$ .

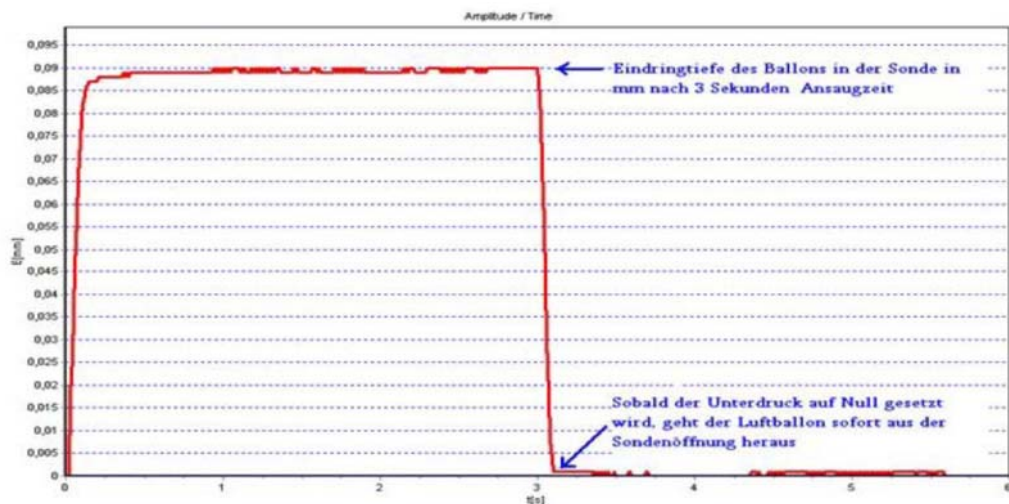
La segunda parte del gráfico de la succión (azul) caracteriza la parte viscoelástica de la piel, sobre todo el componente plástico. En un material



altamente elástico (globo) este componente no existe, o bien es meramente residual.

Este componente plástico se denomina  $U_v$ . En los materiales de elasticidad elevada  $U_v$  tiene un valor muy bajo, ya que el componente plástico apenas existe. El valor de  $U_v$  que hemos determinado para pieles envejecidas es notablemente alto. La suma del componente elástico y viscoelástico de la curva de succión se denomina  $U_f$ .

Tras la etapa de succión, que dura tanto como el usuario haya decidido, el vacío del sensor cambia a 0 mbar de presión y se pasa a la siguiente área de relajación (verde). En un material altamente elástico como un globo la curva retorna al punto de partida de forma inmediata y perpendicularmente:  $U_r = U_f$ . (Gráfico 15).



**Gráfico 15: Medición cutométrica en un globo inflado con un intervalo de succión relajación de 3 segundos cada uno.**

En un medio viscoelástico como la piel se pueden apreciar dos zonas en la curva de relajación (verde): el componente elástico que cae verticalmente ( $U_r$ ) y el viscoelástico o plástico ( $U_a - U_r$ ), que se va aplanando hasta cero.

Ur y Uf son casi idénticos en una piel joven y elástica, mientras que Ur es mucho más reducido en las pieles envejecidas.

La cuantificación en condiciones estandarizadas de determinados parámetros de la superficie de la piel, permite extrapolar conclusiones relativas a su estado o la eficacia de los tratamientos cosméticos que se le apliquen. Las ventajas de estas técnicas son su facilidad de empleo, su reproducibilidad y la posibilidad del tratamiento estadístico de los datos muestreados. No obstante, la correcta toma de datos y la evaluación de los mismos, requiere cierta especialización.

Esta técnica permite consecuentemente establecer y evaluar la eficacia de los tratamientos y su evolución. Con los años se va perdiendo la elasticidad de la superficie cutánea y paralelamente, se incrementa su componente plástico. Así, la piel pierde su tersura y aparecen arrugas. El efecto de los preparados dermatológicos para mejorar dicho comportamiento, se puede evaluar mediante aplicación de diferentes tipos de sobreesfuerzos mecánicos a la piel y el análisis de la resistencia de la piel a éstos.

Está plenamente demostrada la caída de la elasticidad con la edad,<sup>106</sup> entre los sexos y en las distintas ubicaciones corporales,<sup>107</sup> incluso entre el nivel de hidratación de la misma.<sup>108</sup>

---

<sup>106</sup> Ohshima H, Kinoshita S, Oyobikawa M, Futagawa M, Takiwaki H, Ishiko A, Kanto H. Use of Cutometer area parameters in evaluating age-related changes in the skin elasticity of the cheek. *Skin Research and Technology* 2013; 19: 238-242

<sup>107</sup> Firooz A, Sadr B, Babakoochi S, Sarraf-Yazdy M, Fanian F, Kazerouni-Timsar A, Nassiri-Kashani M, Naghizadeh MM, Dowlati Y. Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender, and body region, *The Scientific World Journal*, vol. 2012, Article ID 386936, 2012

<sup>108</sup> Choi JW, Kwon SH, Huh CH, Park KC, Youn SW. The influences of skin visco-elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: a comprehensive and objective approach. *Skin Res Technol*. 2013; 19(1): 349-55

Efectivamente se ha probado una correlación negativa significativa en todos los parámetros y la edad del sujeto. Los individuos jóvenes tienen valores relativos mejores que los adultos, especialmente en las mujeres, mientras que los parámetros absolutos son más altos siempre para los hombres. La falta de recuperación frente al estrés cutáneo, es el valor que más se deteriora con el envejecimiento de la piel y es mucho más pronunciado que la pérdida de elasticidad y firmeza.<sup>109</sup>

## DERETERMINACIONES DE LA DENSIDAD DÉRMICA

La densidad/elasticidad dérmica se puede establecer mediante un *Reviscometer® RVM 600 (CK Electronics Germany)* que fundamenta su principio de medición en la determinación del tiempo de resonancia entre dos sensores de agujas colocados en la piel, uno que transmite una onda shock acústica y el otro que la recibe (Figuras 6 y 7). Según la hidratación y elasticidad de la piel, la onda shock se propaga de diferente forma entre 0-1000 µs. El tiempo que la onda emplea en ir de la aguja transmisora a la aguja receptora es el parámetro que se tabula.

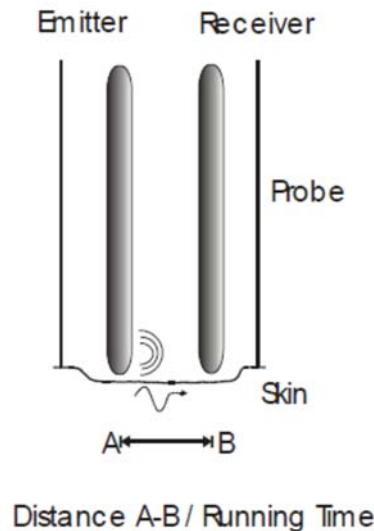
Las ondas acústicas se propagan en la piel a diferente velocidad según vayan a favor o en contra de las fibras, de esta manera se puede determinar las propiedades elásticas y la dirección de las fibras.

El *Reviscometer* que mide el tiempo de funcionamiento de resonancia (*RRT-Resonance Running Time*) que ha demostrado ser inversamente proporcional a la rigidez de la piel. Sin embargo, muy pocas publicaciones describen el uso

---

<sup>109</sup> Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Mechanical properties of human skin in vivo: a comparative evaluation in 300 men and women. *Skin Res Technol.* 2013; Article first published online: 25 JUL 2013

de este instrumento para probar el efecto de los productos cosméticos.



**Figura 7: Esquema del interior de la sonda de un Reviscómetro.**

El valor de RRT está influenciado principalmente, por las fibras de colágeno en las capas papilares de la dermis y se correlaciona negativamente con la rigidez de la piel.<sup>110,111</sup> Naturalmente la densidad dérmica varía entre las distintas zonas corporales,<sup>112</sup> y aunque algunos autores no encontraron cambios en función de la edad en el antebrazo,<sup>113</sup> otros estudios han demostrado un aumento de la RRT en el antebrazo de pieles maduras,<sup>114</sup>

---

<sup>110</sup> Ruvo EC Jr, Stamatas GN, Kollias N. Skin viscoelasticity displays site- and age-dependent angular anisotropy. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 313–321

<sup>111</sup> Vexler A, Polyansky I, Gorodetsky R. Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear wave propagation with viscoelasticity skin analyzer. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 732–739

<sup>112</sup> Shujun X, Wenyan M, Joachim WF, Shunpeng S, Peter ME and Mao-Qiang M. Cutaneous resonance running time varies with age, body site and gender in a normal Chinese population. *Skin Res Technol* 2010; 16: 413–421

<sup>113</sup> Pereira JM, Mansour JM, Davis BR. Analysis of shear wave propagation in skin; application to an experimental procedure. *J Biomech* 1990; 23: 745–751

<sup>114</sup> Hermanns-Le T, Jonlet F, Scheen A, Piérard GE. Age and body mass index-related changes in cutaneous shear wave velocity. *Exp Gerontol* 2001; 36: 363–372

incluso puede predecirse la dirección de envejecimiento.<sup>115</sup>

Además las condiciones sistémicas pueden afectar a las determinaciones. Se ha demostrado que individuos diabéticos tienen aumentado su RRT, en concreto en la frente<sup>116</sup> y los hemodializados en el antebrazo.<sup>117</sup> Igualmente las hormonas sexuales, que tienen un impacto significativo sobre el metabolismo del colágeno, afectan a las determinaciones de RRT.<sup>118, 119</sup>

Los actuales elementos electrónicos de la sonda permiten realizar mediciones con gran rapidez. Disponen de un resorte en el cabezal que garantiza una presión constante sobre la piel. Junto con el Cutometer, se puede crear un "centro de medición de elasticidad" para examinar este parámetro desde diferentes ángulos. Ambos métodos han demostrado reproductividad y correlación.<sup>120</sup> Así la reviscometría se plantea como una técnica muy eficaz para la valoración de la eficacia cosmética y la comparación entre los distintos productos cosméticos o cosmeceúticos.<sup>121</sup>

---

<sup>115</sup> Ohshima H, Tada A, Kanamaru A, Akamatsu H, Sakai Y, Itoh M and Kanto H. Relevance of the directionality of skin elasticity to aging and sagging of the face. *Skin Res Technol* 2011; 17: 101-107

<sup>116</sup> Seirafi H, Farsinejad K, Firooz A, Davoudi SM, Robati RM, Hoseini MS, Ehsani AH, Sadr B. Biophysical characteristics of skin in diabetes: a controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 146-149

<sup>117</sup> Uhoda I, Petit L, Krzesinski JM, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Effect of haemodialysis on acoustic shear wave propagation in the skin. *Dermatology* 2004; 209: 95-100

<sup>118</sup> Calvo E, Luu-The V, Morissette J et al. Pangenomic changes induced by DHEA in the skin of postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008; 112: 186-193

<sup>119</sup> Shin MH, Rhie GE, Park CH, Kim KH, Cho KH, Eun HC, Chung JH. Modulation of collagen metabolism by the topical application of dehydroepiandrosterone to human skin. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 315-323

<sup>120</sup> Neto P, Ferreira M, Bahia F, Costa P. Improvement of the methods for skin mechanical properties evaluation through correlation between different techniques and factor analysis. *Skin Res Technol*. 2013; 19(4): 405-416

<sup>121</sup> Jung JW, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. An 8-week face-split study to evaluate the efficacy of cosmeceuticals using non-invasive bioengineering devices. *Skin Research and Technology*. 2013; 19: 324-329



**Figura 8: Sonda de reviscómetro introducida en el soporte que se adhiere a la piel y que le permite girar en distintos ángulos prefijados.**

La metodología empleada consistió en la obtención de las sales del manantial de Lanjarón-Capuchina que permitiría elaborar los productos dermatológicos a estudio, a los que se les valoraría su inocuidad y posteriormente su eficacia por medios de exploración no invasivos (MENI).

## **OBTENCION DE LAS SALES DE LANJARÓN-CAPUCHINA**

El peloide de la capuchina es obtenido por sedimentación. Sus sales se extraen por centrifugación y secado a temperatura ambiente, para posteriormente realizarle una tindalización hasta la eliminación de la carga bacteriana principal.

Se parte de una medición previa de la conductividad del agua de Lanjarón-Capuchina a través de un conductímetro *HANNA Dist 2 TDS Tester* que permite una resolución de concentraciones hasta un rango de 0,01g/L. Son probadores de bolsillo robustos y fiables que ofrecen lecturas rápidas y precisas de conductividad o TDS. Estos dispositivos son ampliamente empleados para el

control en el agua potable, el tratamiento de aguas, osmosis inversa, etc.

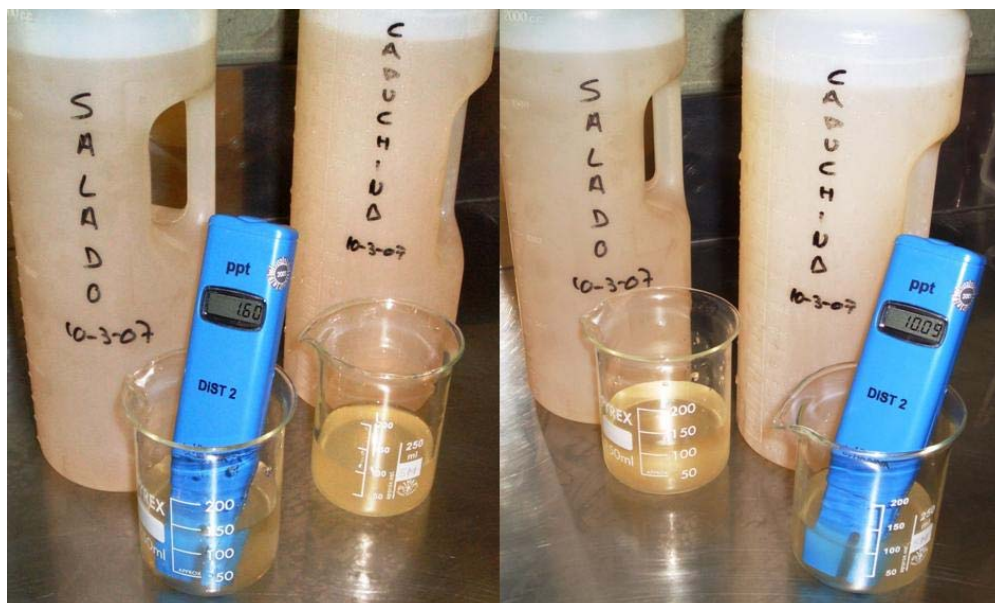
El dispositivo permite calcular de una forma aproximada la cantidad de sales que se va a obtener de una muestra de agua y así calcular de una forma eficiente las necesidades para la fabricación. Esto es, el rendimiento de la operación.

El equipo es capaz de calcular el Total de Sólidos Disueltos, TDS (*Total Dissolved Solids*), que es una medida de las sustancias orgánicas e inorgánicas, en forma molecular, ionizada o micro-granular, que contienen los líquidos a determinar, en nuestro caso, el agua. Para considerarse TDS, las sustancias deben ser lo suficientemente pequeñas como para pasar una criba o filtración del tamaño de dos micras.

Si las sustancias orgánicas e inorgánicas no pueden pasar una filtración de dos micras, ni están indefinidamente suspendidas o disueltas, se llaman TSS (Total Suspended Solids o Total de Sólidos Suspendidos).

La medida TDS tiene como principal aplicación el estudio de la calidad del agua. Es un indicador de las características del agua, de la composición química y concentración en sales y otras del agua.

Como puede observarse en la Figuras 8 y 9, el agua de la muestra de Lanjarón-Capuchina posee una concentración en sales de 10,09 g/L que contrasta con la del manantial de El Salado 1,60 g/L o con la concentración isotónica para las células humanas (0,9% expresada en cloruro sódico).



**Figura 9: Determinación presión osmótica. Aguas de La Capuchina y Salado.**

Como se conoce, la centrifugación es una técnica de sedimentación acelerada gracias al uso de una fuerza centrífuga y se aplica a la separación de mezclas de partículas, células, orgánulos o moléculas. En este caso, de cristales minerales de agua.

Se realiza una “centrifugación diferencial” de la muestra a 3.500 rpm. El tubo de centrífuga industrial se llena con la muestra y se centrifuga. El comportamiento de cada componente de la muestra depende de su forma, tamaño, densidad y, lógicamente, de las condiciones de centrifugación, pero sólo se obtienen 2 fracciones: sedimento y sobrenadante.

Se desprecia el sobrenadante y se recolecta el sedimento que se procede a secar durante 24 horas a temperatura ambiente en cámara frigorífica sin humedad. Trascurridas las 24 horas se procede a tindalizar el producto.

La tindalización es una técnica de esterilización que consiste en elevar la temperatura del material que se quiere someter a tratamiento, entre 60 y 100



°C, varias veces seguidas a intervalos de 24 horas. Con ello se consigue la destrucción de los microorganismos sin alterar la composición química del material.

La tindalización se realiza en frascos de cristal cerrados de 400 mL de volumen y se necesitan 40 minutos para una primera tindalización y 30 minutos para la segunda y la tercera.

El proceso se realiza de la siguiente manera:

1. Dentro de un autoclave alto se coloca una rejilla metálica de soporte y encima se ubican los frascos llenos y cerrados.
2. Se cubren con agua, para evitar que el vidrio se quiebre por shock térmico. Hay que vigilar que la temperatura del agua sea similar a la del contenido de los frascos.
3. Se tapa el autoclave y comienza la calefacción hasta 100°C durante 40 minutos, dejándolo entonces enfriar hasta temperatura ambiente.
4. Se repite la operación a las 24 horas durante 30 minutos.
5. Se vuelve a repetir la operación a las 24 horas durante otros 30 minutos

Con este proceso se consigue una mezcla de sales de Lanjarón-Capuchina prácticamente seco que se incorpora a los preparados dermatológicos de forma inmediata. Esto es, se prepara a demanda.



**Figura 10: Peloides de La Capuchina y El Salado antes y después de ser centrifugado en laboratorio de control.**

## **MÉTODO DE VALORACIÓN DE LA INOCUIDAD**

Se realizaron las determinaciones necesarias para la valoración de la inocuidad mediante las técnicas de Patch Test e In-Use Test.

### **PATCH TEST**

Los panelistas voluntarios que realizaron la prueba Patch Test fueron los designados en el capítulo de población muestral, por lo que huelga repetir los criterios de selección, inclusión, exclusión y eliminación de los mismos.

En la valoración de patch test, la duración del periodo de observación tras la eliminación del parche no se fijó de una forma rígida. Debe ser suficiente para evaluar totalmente los efectos observados. En el patch test se fijó al menos una hora tras la retirada del parche.

Después de levantar el parche, deben examinarse los pacientes buscando señales de eritema y edema y anotar las valoraciones de las respuestas a las 48 horas y 96 horas de la aplicación.

Definimos como reacción irritante: Discreto eritema irregular u homogéneo sin infiltración o eritema folicular irregular. Las pústulas y pústulas foliculares son características de irritación y no de alergia. Algunas veces es muy difícil distinguir entre una reacción irritante y reacción alérgica positiva débil. A veces es necesario repetir el test nuevamente.

El siguiente cuadro se utiliza para interpretar los resultados:

REACCIÓN	PUNTUACIÓN
<b>- NEGATIVA</b>	0
<b>? DUDOSA (LIGERAS MÁCULAS O ERITEMA HOMOGÉNEO, SIN INFILTRACIÓN)</b>	1
<b>+ DÉBIL (NO-VESICULAR: ERITEMA, INFILTRACIÓN, DISCRETAS PÁPULAS)</b>	2
<b>++ FUERTE (EDEMAS/VESÍCULAS: ERITEMA, INFILTRACIÓN, PÁPULAS, VESÍCULAS DISCRETAS)</b>	3
<b>+++ EXTREMA (ULCERAS/AMPOLLAS: VESÍCULAS COALESCENTES/AMPOLLAS)</b>	4

## IN-USE TEST

Los panelistas voluntarios que realizaron la prueba Patch Test fueron los mismos que realizaron el estudio In Use Test, por lo que huelga repetir los criterios de selección, inclusión, exclusión y eliminación de los mismos.

### 1) Valoración

Para el In Use Test cada voluntario relleno una encuesta para valorar la efectividad del producto y el grado de complacencia del preparado dermatológico. Esta encuesta se entregó a cada voluntario después de llevar a cabo la prueba y después de un periodo de la observación por parte del dermatólogo.

Para no influir en los resultados se prohibieron los comentarios y conversaciones entre los voluntarios hasta completar el test.

El test constaba de 8 preguntas, la última es referente a la capacidad irritante de los preparados.

Existen sólo tres posibilidades de respuesta en las 7 primeras preguntas: Excelente, Normal, Malo.

Cada respuesta es valorada según el siguiente criterio:

Primera respuesta señalada {A1} (Excelente)	10 puntos
Segunda respuesta señalada {A2} (Normal)	5 puntos
Tercera respuesta señalada {A3} (Malo)	0 puntos

Fórmula para puntuar cada respuesta =  $n^{\circ}A1 \times 10 + n^{\circ}A2 \times 5 + n^{\circ}A3 \times 0$ ) {B1}

**PUNTUACIÓN DE CADA PREGUNTA**, puntuación media = {B1}/  
(n°respuestas) {B2}

**PUNTUACIÓN GLOBAL**, media de resultados =  $\Sigma\{B2\} / n^{\circ}$  de preguntas {F}

**VALORACIÓN FINAL**: correlación de {F} con un calificativo según la siguiente tabla:

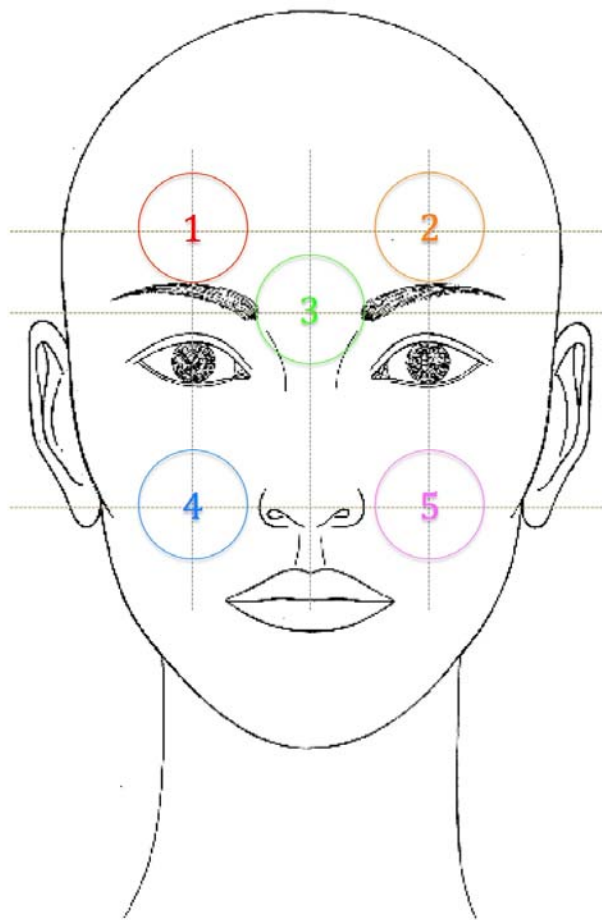
{F} = 0-1	Muy deficiente
{F} = 2	Deficiente
{F} = 3	Malo
{F} = 4	Inadecuado
{F} = 5	Estándar-normal
{F} = 6	
{F} = 7	Bueno
{F} = 8	Muy bueno
{F} = 9	Excelente
{F} = 10	Perfecto

## METODOLOGÍA DE LOS MENI

La intención fue determinar la variación de algunas constantes físico-químicas cutáneas en el rostro justamente en los lugares que muestra la Figura

10.

Los controles se realizaron en un ambiente de laboratorio controlado (temperatura y humedad) tras asegurarse la adaptación de los voluntarios al mismo (en reposo de 30 minutos).



**Figura 11: Lugar de las determinaciones no-invasivas en el rostro. (1) Cutometer, (2) Reviscometer, (3) Sebumeter, (4) Tewameter y (5) pHmeter**

Las constantes se determinaron antes de la experiencia (día 0) y a los 15, 30, 60 y 90 días después de comenzar el tratamiento. En estas condiciones han sido determinados los valores de referencia (basales) de las variables seleccionadas para caracterizar los cambios inducidos en la piel.

## **SEBUMETRÍA**

El film traslúcido está montado en un dispositivo de tipo casete que permite medir la transmitancia de la cinta de material sintético de 0,1 mm de espesor, en una superficie que expone una sección de 64 mm<sup>2</sup> de la cinta.

Cada medición se hace avanzando la cinta mediante un tirador lateral de forma que, al avanzar la película queda expuesta una nueva sección. En el interior del casete se va rebobinando la cinta usada. Un casete tiene para hacer unas 450 mediciones.

La película está presionada constantemente en el área de medición por un espejo, situado debajo de la sección de película, a 1mm del cabezal y unido al casete por un muelle de 0,3 N.

Se calibra la transparencia de la cinta virgen en el fotómetro, apoyándola sobre un dispositivo a tal fin durante un intervalo de tiempo constante fijado en 10 segundos, momento en que el dispositivo realiza una lectura de absorbancia inicial de la cinta (determinación de cero).

Una vez obtenido el cero se coloca el casete durante 30 segundos (la máquina avisa sonoramente cuando el tiempo ha finalizado) sobre la superficie a medir y se vuelve a introducir en el fotómetro.

Aunque se puede hacer en menos, el tiempo de medición recomendado mínimo es de 15 segundos. Para comparar resultados de mediciones sólo será posible hacerlo entre determinaciones realizadas con el mismo número de segundos.

La pantalla de lectura proporcionará el resultado en  $\mu\text{g}$  de sebo por  $\text{cm}^2$  de piel, ya que el software convierte la transmitancia de la luz en las unidades mencionadas anteriormente. El resultado se muestra en unidades arbitrarias de 0 a 350, que es calculado por un microprocesador.

De acuerdo con las especificaciones del fabricante del aparato, esto es posible a causa de la existencia de una relación lineal entre la cantidad de grasa retenida en la película y la transmitancia de la luz entre los valores absolutos de 50-300  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$  de lípidos.

Estos valores extremos (50-300  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ ) son suficientes tanto para fines diagnósticos como para evaluar la eficacia de las preparaciones cosméticas (valores inferiores a 50  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$  corresponden a las pieles prácticamente alípicas, y valores por encima de 300  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$  a las pieles hiperseborreicas).

Los valores de la Tabla 3 son válidos para pieles sanas en condiciones ambientales normales (20-22° C y 40-60 % humedad) y sirven para identificar los distintos tipos de piel. El fabricante ha realizado estudios de evaluación para relacionar los resultados en  $\mu\text{g}$  sebo/ $\text{cm}^2$  de piel:



	frente, zona "T," cuero cabelludo	pelo	mejilla, párpado, sien	comisura de la boca, partes superiores del cuerpo, espalda, cuello	Brazos, manos, piernas, codos
<b>Seco, poco sebo</b>	< 100	< 40	< 70	< 55	0-6
<b>normal</b>	100 - 220	40 - 100	70 - 180	55 - 130	> 6
<b>graso</b>	> 220	> 100	> 180	> 130	---

**Tabla 2: Determinaciones sebumétricas en distintas zonas corporales y en distintos tipos de piel**

El cuadro anterior proporciona una referencia aproximada a la hora de interpretar los resultados.

La medición es lineal entre 50 y 350  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . En resultados por debajo de 50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  no hay relación lineal entre los valores de medición y el contenido en grasa, de manera que no es posible calcular este en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Pudiendo no obstante realizar para este rango estudios comparativos.

Al repetir la medición en el mismo punto tendremos un valor menor en grasa ya que, la película se lleva adherida la grasa de la piel.

Las repeticiones de medición se deben realizar en puntos cercanos. La cinta se llena con 350  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  más o menos. Las pieles muy sebosas podrían tener un contenido de grasa mayor. En un área determinada donde el contenido en grasa puede ser mayor a 350  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , se repite la medición en el mismo punto exacto y se acumula el valor de las distintas mediciones.

Precauciones a tomar en las determinaciones:

- Antes de comenzar un estudio, comprobar los valores de calibración con la función check calibración.
- Las condiciones externas e internas influyen en el contenido de grasa.

- Hay que diseñar un protocolo de prueba detallado ajustando el mayor número de factores posibles: raza, sexo, edad, nutrición, sobrepeso, medicación o hábitos de deporte.
- Los cambios de temperatura y la humedad ambiental influyen en la producción de grasa.
- La limpieza de la piel debe hacerse con un limpiador suave.
- Sobre la piel limpia, se hace la medición con intervalos de una hora o menos, para establecer la producción de grasa.
- Al testar preparados dermatológicos no se hace la medición inmediatamente después de aplicar el preparado dermatológico, ni se toca la piel con los dedos.
- El maquillaje y la crema encubren el contenido en grasa. Para establecer el tipo de piel en consulta cosmética, la paciente debe ser testada dos horas después de haberse retirado el maquillaje.
- Cuando un producto se use en un estudio largo, los voluntarios deben tener instrucciones detalladas: hora de aplicación, hora de retirada, momento de hacer la medición, etc.

## PHMETRÍA

Como el pH puede verse influenciado tanto por factores endógenos como exógenos, se debe realizar un estricto protocolo de preparación de la piel desde la noche anterior a la determinación, al objeto de mantener constantes los parámetros como resulte posible.

Antes de comenzar la medición se deberá lavar el sensor con agua destilada

y sacudir el exceso de líquido para que el sensor quede únicamente humedecido. Un exceso de agua en la membrana podría distorsionar la medición o retardar la formación de valores estables sobre la pantalla. El sensor deberá estar siempre en posición vertical y apuntando hacia abajo.

El dispositivo informático del Skin-pHMeter® PH 905 mostrará siempre el promedio de todas las mediciones realizadas junto a los parámetros de la temperatura y humedad relativa.

En la Tabla 4 se muestran algunos pH orientativos característicos de pieles sanas en condiciones ambientales de 20° C de temperatura y humedad relativa = 40-60.

PH	< 3.5	3.8	4.0	4.3	4.5	5.0	5.3	5.5	5.7	5.9	6.2	6.5	> 6.5
Mujer	+ rango ácido -				normal				- rango alcalino +				
Hombre	+ rango ácido -				normal				- rango alcalino +				

**Tabla 3: Distintos tipos de pH de pieles normales en hombres y mujeres.**

No existen límites a la medición de valores pH para este dispositivo. Su diseño lo hace idóneo para medir en cavidades corporales o directamente en soluciones líquidas.

## TEWL

El fundamento de la técnica radica en apoyar sobre la piel el dispositivo en cuyo extremo se localiza una cápsula cilíndrica de teflón abierta a la atmósfera, que ubica dos higrosensores situados a unas distancias fijas y conocidas de la superficie de la zona muestreada. Los higrosensores envían a la unidad central del aparato medidas de humedad y temperatura a los dos niveles, y son procesadas y transformadas en valores de “transporte de agua”, como se

explicó con anterioridad.

El Tewameter® TM 300 es un dispositivo de medición de alta estabilidad capaz de detectar desviaciones de temperatura en el rango de las centésimas de grado. Consecuentemente la técnica descrita presenta algunas limitaciones a nivel operativo:<sup>122</sup>

- La sensibilidad del dispositivo es de  $0,1 \text{ g/m}^2 \cdot \text{h}$ , lo que en algún estudio puede ser insuficiente. En general se logra alcanzar un valor de medición TEWL estable y contrastable en cuanto los detectores inferior y superior han alcanzado una temperatura igual a la de la piel. La reducida cantidad de agua desprendida mediante evaporación desde una piel normal y sana (aprox.  $8\text{-}15 \text{ g/h/m}^2 \rightarrow 0,00008\text{-}0,000015 \text{ g/h/cm}^2 \rightarrow 0,0000013\text{-}0,0000002 \text{ g/min./cm}^2$ ) tarda necesariamente algún tiempo en caldear los detectores hasta la temperatura de la piel. El dispositivo incluye una opción de precalentado de los sensores que permite elevar su temperatura hasta  $+3^\circ \text{C}$  (más próxima a la temperatura de la piel), lo cual reduce en gran medida el tiempo de medición.
- La gran sensibilidad de la técnica a las turbulencias de aire en zonas próximas a la de toma de muestras, el simple movimiento del operador, así como a la humedad ambiental, pueden alterar las determinaciones, por lo que se recomienda la eliminación de ventilación forzada de la estancia, evitar respirar sobre el dispositivo, fuentes de luz, etc. Es pues necesario mantener constantes las condiciones ambientales, en particular temperatura y humedad relativa entre  $20\text{-}22^\circ \text{C}$  y una humedad relativa entre  $40 - 60\%$ , para que las

---

<sup>122</sup> Rogiers V. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 2001; 14(2): 117-28

determinaciones sean reproducibles.

- El panelista debe estar en reposo y en la habitación donde van a realizarse las determinaciones al menos durante 10-20 minutos, hasta que su circulación sanguínea se estabilice después de un posible esfuerzo físico. La tensión emocional también incrementa la transpiración.

Se describen una serie de valores característicos de piel sana en condiciones normales del entorno (20-22° C y humedad relativa = 40-60%) para medición en cámara abierta (Tabla 5).

TEWL- g/h/m <sup>2</sup>	Guía interpretativa
0-10	Muy saludable
10-15	Saludable
15-25	Normal
25-30	Piel maltratada
Más de 30	Estado crítico

**Tabla 4: Pérdida transepidérmica de agua en el rostro en distintos tipos de alteraciones cutáneas**

Estos valores son aproximados y han de utilizarse sólo como referencia interpretativa.

## **CUTOMETRÍA**

El Cutometer® MPA 580 proporciona cuatro modos de medición diferentes dependiendo de los diversos requisitos:

1. Medición con presión negativa constante (-\_)
2. Medición con presión negativa ascendente y descendente de forma lineal (/\\)

3. Medición con presión negativa, primero constante y después descendente de forma lineal (-\)

4. Medición con presión negativa, primero ascendente de forma lineal y a continuación cese repentino de la presión negativa (/\_)

Tras la medición el sistema de coordenadas del monitor mostrará un gráfico, indicando la profundidad de penetración de la piel en el interior del sensor y la relajación en décimas de milímetro.

El modo de medición nº 1 ha demostrado ser el más importante. Los modos 2, 3 y 4 carecen prácticamente de relevancia en la práctica profesional. Por consiguiente los parámetros de medición, en particular los parámetros de área, han sido desarrollados especialmente para los gráficos resultantes del modo 1.

Todas las mediciones son relativas: es decir, la profundidad de penetración de la piel en el interior del sensor con presión aplicada (p. ej. piel envejecida) se toma como cota cero para la medición.

### **Modo de medición 1 (- )**

En dicho modo la piel es succionada hacia el interior de la sonda durante el tiempo de succión al aplicar una presión negativa constante. Acto seguido la presión negativa cesa y la piel regresa a su forma original.

Como se ha anticipado, el Gráfico 16 describe las características viscoelásticas de la piel. En la primera parte de la etapa de succión, la pendiente de la curva es prácticamente vertical hasta experimentar un aplanamiento gradual y alcanzar un máximo.

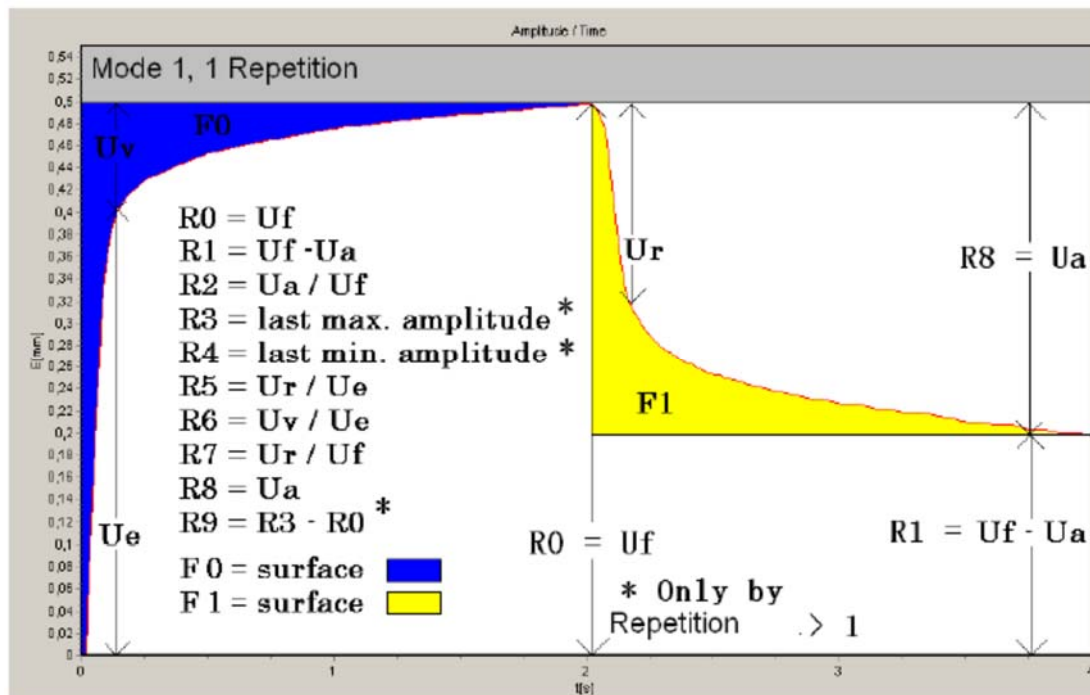


Gráfico 16: Parámetros de cutometría.

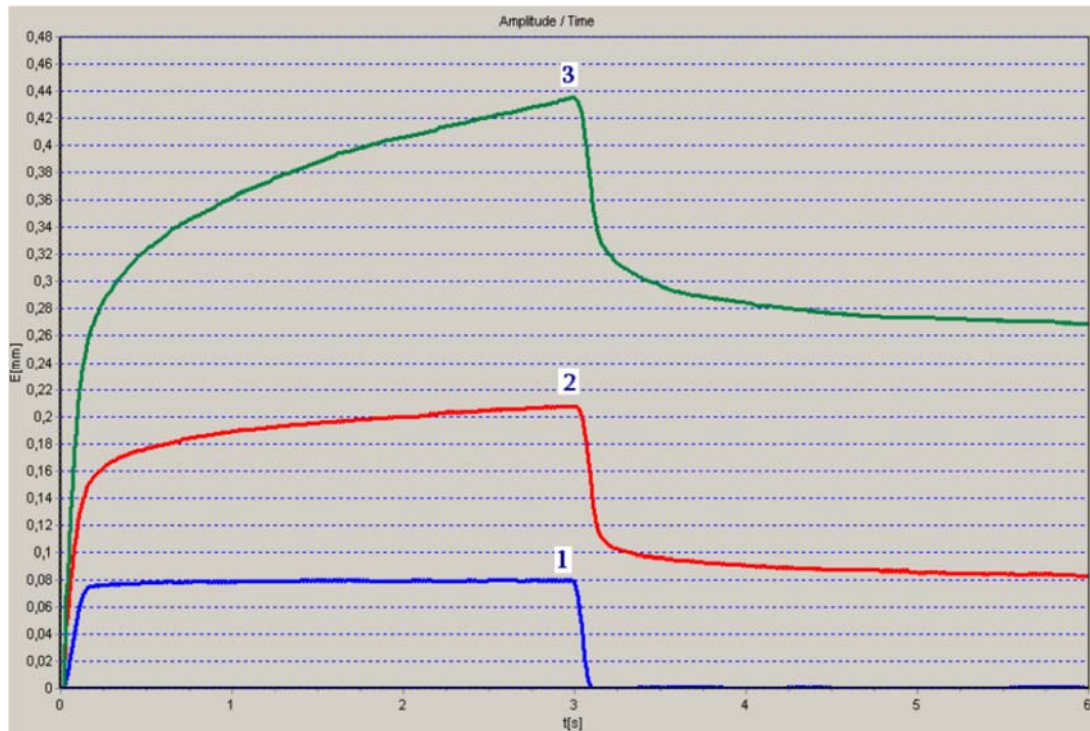
La primera parte del gráfico es el componente de elasticidad, definido como Ue.

$$U_e = U_f - U_v.$$

Ue se obtiene al cabo de aproximadamente 0,1 seg., no obstante es el usuario quien debe decidir en qué momento finaliza la primera etapa. La segunda parte de la succión caracteriza la parte viscoelástica de la piel, sobre todo el componente plástico, que se denomina Uv. En los materiales de elasticidad elevada Uv tiene un valor muy bajo, ya que el componente plástico apenas existe. El valor de Uv que hemos determinado para pieles envejecidas es notablemente alto.

Si se mide a una persona de 65 años la elasticidad en el contorno del ojo y en el antebrazo, se obtienen resultados muy distintos. La elasticidad en el contorno del ojo es mucho menor y tarda más tiempo en volver a su forma

original. En el antebrazo es mayor y la piel no penetra en la sonda tan profundamente como en el caso del ojo. El tiempo la de relajación en el ojo es también más rápida, aunque no tanto como en el caso del globo (Gráfico 17).



**Gráfico 17: Diagramas de succión y relajación de un globo (1), antebrazo (2) y contorno de ojo (3).**

En la segunda parte de la figura se determinan las constantes elásticas. En un medio viscoelástico como la piel se pueden apreciar dos zonas en esta parte de la curva: el componente elástico puro que cae verticalmente ( $U_r$ ) y el viscoelástico o plástico ( $U_a - U_r$ ), que se va aplanando hasta cero.  $U_r$  y  $U_f$  son casi idénticos en una piel joven y elástica, mientras que  $U_r$  es mucho más reducido en las pieles envejecidas.

Estos parámetros dependen en gran medida de la amplitud máxima de la curva  $U_f$ , la cual se ve influida notablemente por un manejo adecuado del dispositivo, la hidratación de la piel, la presión correcta, etc. El software es



capaz de calcular parámetros de área en el modo 1, aunque algunas determinaciones precisan una repetición de la succión.

### **Presión**

El valor de la presión negativa admite un valor entre 20 y 500 mbar, y la presión negativa seleccionada aparecerá en la pantalla. La presión negativa influye decisivamente sobre las mediciones de elasticidad y plasticidad. Una presión negativa entre 100 y 200 milibares genera curvas más bajas que una presión más fuerte de 400 a 500 mbar. En virtud de la experiencia, se recomiendan presiones negativas de entre 400 y 500 milibares. Incumbe al usuario elegir una presión adecuada a la finalidad de cada aplicación.

### **Tiempo de succión (On-Time)**

El tiempo de succión constituye la primera parte del ciclo de medición del Cutometer® MPA 580. Lo denominamos “tiempo en on”. Durante este período la piel es succionada al interior del sensor y puede ser ajustado dentro de un rango de entre 0,1 y 60 segundos. Para comprobaciones de rutina se ha comprobado la idoneidad de los valores entre 2 y 4 segundos.

### **Tiempo de relajación (Off-Time)**

El gráfico obtenido al interrumpir la presión negativa desempeña un papel importante en las mediciones con presión negativa constante. Esta parte de la curva sirve para verificar la capacidad de la piel para volver a su estado original una vez desconectada la presión negativa.

Las pieles envejecidas, sobre todo en la proximidad del ojo, requieren un tiempo mucho mayor que las jóvenes para regresar a su punto de partida. Los

componentes de elasticidad y plasticidad tienen una gran importancia en esta dinámica y puede ajustarse entre 0,1 y 60 segundos. En la pantalla aparecerá el tiempo seleccionado. Para verificaciones de rutina se recomiendan como ideales valores comprendidos entre 2 y 4 segundos.

### **Mediciones repetidas**

El Cutometer® MPA 580 permite realizar varias mediciones dentro de un mismo ciclo. El número exacto de repeticiones depende del ajuste de los tiempos de succión y de relajación, así como de la duración del ciclo de medición. El número de mediciones proporciona información sobre el coeficiente de fatiga de la superficie de la piel, lo cual se advierte en la pendiente cada vez mayor de las curvas y nunca deberá superar los 320 segundos  $[(\text{tiempo succión} + \text{tiempo relajación}) \cdot \text{repeticiones}]$ .

Al medir repetidas veces en la misma parte de la piel durante un ciclo de mediciones, la piel realiza un esfuerzo adicional, perdiendo de este modo elasticidad. La fatiga produce el efecto siguiente:  $U_f$  se va alargando en las curvas sucesivas, mientras que  $U_a$  se acorta. Este suele ser con frecuencia el caso cuando el componente viscoelástico es muy alto.

En nuestro trabajo se establecieron los ajustes siguientes:

- Modo de medición: 1
- Presión: 450 mbar
- Abertura del sensor: 2 mm  $\varnothing$
- Tiempo en on: 2 segundos
- Tiempo en off: 2 segundos

- Repeticiones: 10
- Tiempo preliminar: 0

Con las curvas obtenidas a partir de las mediciones se puede realizar gran variedad de cálculos. En este programa los resultados correspondientes a cada modo son los más importantes de su categoría, según figuran en la literatura especializada (Gráfico 18).

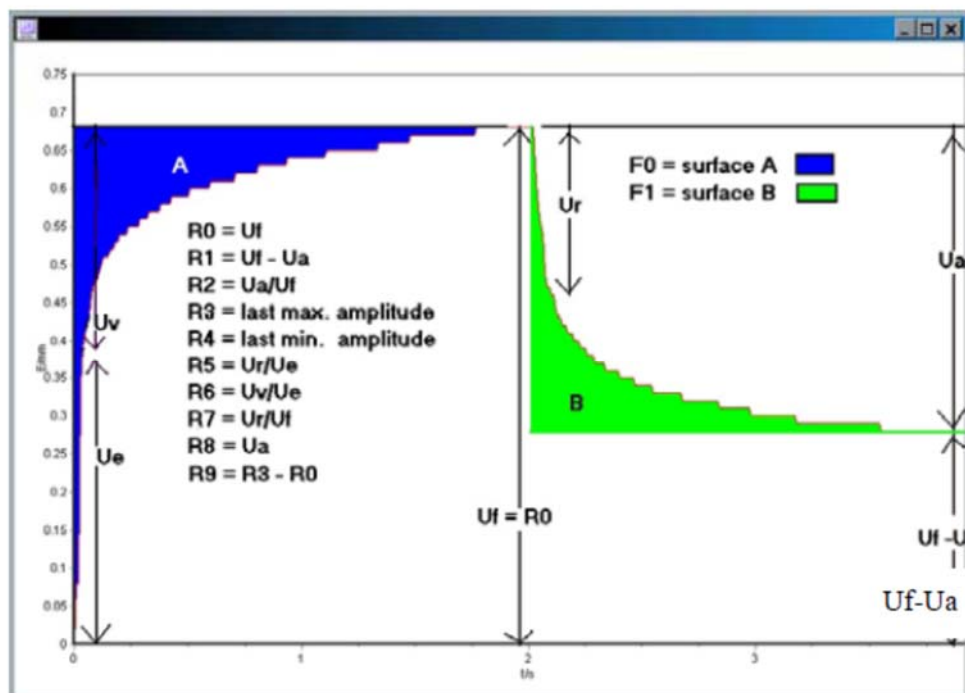


Gráfico 18: Parámetros de cutometría

### Modo 1

En el modo 1, que es la configuración ideal para la piel sana, se pueden determinar los siguientes parámetros:

R0 = Uf = Primera amplitud máxima, punto más elevado de la primera curva. Proporciona información relativa a la tersura de la piel. Ejemplo: dos globos, uno de ellos hinchado del todo y el otro solamente a medias. El material es

elástico en todos los casos, pero el globo más inflado está también más terso. Este parámetro sirve para describir el comportamiento pasivo de la piel al aplicar una fuerza sobre ella.

$R1 = U_f - U_a$  = Primera amplitud mínima, punto más bajo de la primera curva (capacidad para volver a su estado original).

$R2 = U_a/U_f$  = porción entre amplitud máxima y capacidad de redeformación de la piel (elasticidad bruta). Cuanto más se aproxime este valor a 1 (100%) más elástica será la curva. Este parámetro es de vital importancia.

$R3$  = última amplitud máxima, punto más elevado de la última curva referido a la amplitud máxima de la primera curva. Se aprecian “efectos de fatiga” de la piel, al verse incrementada la amplitud con cada succión consecutiva.

$R4$  = última amplitud mínima, último punto de medición referido a la amplitud mínima de la primera curva. Se aprecian “efectos de fatiga” de la piel, al ir disminuyendo la capacidad de redeformación con cada succión consecutiva.

$R5 = U_r/U_e$  = elasticidad neta. Cuanto más se aproxime el valor a 1 (100%) mayor será la elasticidad de la curva.

$R6 = U_v/U_e$  = porción de la viscoelasticidad con respecto a la parte elástica de la curva. A valores más bajos, mayor elasticidad.

$R7 = U_r/U_f$  = porción de elasticidad referida a la curva en su totalidad. Cuanto más cerca de 1 (100%) más elástica la curva.

$R8 = U_a$  de la primera curva. Cuanto más aproximadas sean  $U_a$  y  $U_f$  mayor

será también la capacidad de la piel para volver a su estado original.

$R9 = R3 - R0$ . Pone de manifiesto efectos de fatiga de la piel tras repetidas operaciones de succión. Cuanto menor sea  $R9$  menor será la fatiga.

Como se ha descrito con anterioridad, las determinaciones se realizaron con una abertura de sensor de 2 mm a una presión de 450 mbar/ciclo de succión, para tiempos de succión y reposo alternantes de 2 seg, y 10 repeticiones. Los indicadores biomecánicos escogidos han sido:

1.  $R0$  ( $U_f$ ): Extensibilidad máxima (total) de la piel. Cuanto menor sea el parámetro más resistencia a la deformación presenta la piel.
2.  $R2$  ( $U_a/U_f$ ): Elasticidad total de la piel. Porción entre amplitud máxima y capacidad de redeformación de la piel (elasticidad bruta). Cuanto más se aproxime este valor a 1 (100%) más elástica será la curva.
3.  $R6$  ( $U_v/U_e$ ): Determina la viscoelasticidad con respecto a la parte elástica de la curva. A valores más bajos, mayor elasticidad.
4.  $R9$  ( $U_{f10}-U_{f1}$ ): Fatiga cutánea, que pone de manifiesto los efectos de falta de resistencia de la piel tras repetidas operaciones de succión. Cuanto menor sea el valor de la medición, menor será la fatiga.

Finalmente, a la hora de realizar las determinaciones se observarán las siguientes condiciones:

- Las mediciones deberán realizarse siempre bajo las mismas condiciones ambientales: temperatura y humedad relativa constantes. Solo así se obtendrán resultados contrastables a lo largo del tiempo. Condiciones

ideales: 20-22° C y humedad relativa = 40 - 60 %.

- El paciente debe aclimatarse a la estancia al menos 20 minutos. Tras un esfuerzo físico hay que dejar que se normalice la circulación sanguínea. El stress emocional también influye en la transpiración. Las mediciones de elasticidad pueden verse afectadas por una circulación sanguínea o una transpiración más intensas.
- Si se tiene que medir sobre piel vellosa es recomendable afeitar la zona algo antes de realizar la medición, para evitar que el pelo y sus partículas adyacentes entren en contacto con los prismas del cristal.

## REVISCOMETRÍA

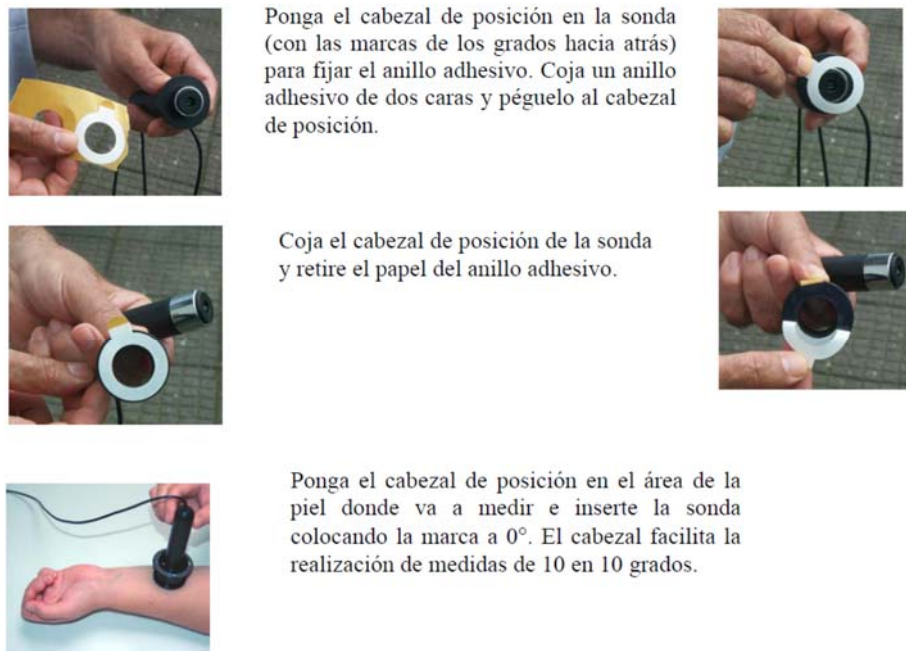
Existen cuatro posibilidades de mediciones sonoras establecidas en las distintas direcciones de la misma zona cutánea en función de la dirección escogida: 0/180°, 45/225°, 90/270° y 135/315°. Se pueden establecer las propiedades elásticas y la dirección de las fibras ya que las ondas acústicas se difunden en la piel a distinta velocidad según vayan a favor o en contra de las fibras.

Un dispositivo cilíndrico se fija en la piel y la sonda se acopla en la parte superior del mecanismo, lo que permite girar la sonda adecuadamente y medir la velocidad de transmisión del sonido en los distintos ángulos (Figura 11).

Dentro de un círculo se pueden realizar tantas mediciones como se quieran (ej. cada 10 grados, cada 20 grados, etc.).

Se observa que los valores tomados en un lugar de la piel a diferentes ángulos muestran un pico. La altura y la anchura del pico varían

sustancialmente con la edad y es correlativo a la anisotropía de las líneas de Langer en la piel. La piel de los niños no muestra el pico, al aumentar la edad el pico se hace más alto y menos ancho.



**Figura 12: Sistema de medición del Reviscómetro.**

El Reviscometer® RVM 600 permite realizar mediciones precisas y reproducibles sin influir en la piel gracias a la baja y constante presión del sensor. Es un dispositivo de mediciones de gran sensibilidad en el que influyen las condiciones constantes en el entorno, en particular una temperatura y una humedad relativa invariables. De otro modo resultaría imposible una comparación de resultados obtenidos a lo largo de períodos de tiempo prolongados. Condiciones ideales serían las de una habitación a 20-22° C con humedad relativa de entre un 40 y un 60%.

Asimismo, el panelista necesita al menos 10 minutos para aclimatarse. La circulación sanguínea tiene que estabilizarse después de un posible estrés

físico. El estrés emocional también podría aumentar la transpiración. La presión arterial elevada o la transpiración pueden influenciar la medición de la elasticidad.

Los valores mostrados son valores técnicos del tiempo de resonancia. Cuanto mayor sea el tiempo que las ondas necesiten para propagarse a través de la materia, más alto es el valor medido y menos elástica es.

## MÉTODO ESTADÍSTICO

Se ha realizado estadística descriptiva (media y desviación estándar) y test de Student para datos apareados en referencia a la basal, adaptándose un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

El test de Student se atribuye a William S. Gosset, especialista en Estadística de la Guinness Breweries de Irlanda, que tuvo que falsear su identidad a comienzo del siglo XX, al ser empleado de la empresa y tener prohibido publicar trabajos de investigación bajo sus propios nombres. La distribución que desarrolló se conoce como la distribución t de Student.

En probabilidad y estadística, la distribución- $t$  o distribución  $t$  de Student es un cálculo de la probabilidad que surge del problema de encontrarse una muestra en la media de una población normalmente distribuida cuando el tamaño de la muestra es pequeño. Además se le denomina teoría exacta del muestreo, pues también puede emplearse en muestras aleatorias de tamaño grande.

Se trata de un test paramétrico, esto es, parte de la suposición de que el parámetro analizado en el conjunto de la población sigue una variabilidad, con



una distribución como una campana de Gauss. Por lo tanto, se puede pensar que la distribución normal es un buen modelo de esa población.

Así, el cálculo estadístico marca a la muestra con un número. Un número, que tendrá relación con la distribución de los datos. Si cae en una zona central de esa distribución de probabilidad 0,95 (el 95%, porcentualmente) se mantiene la hipótesis nula y se acepta estadísticamente, mientras que si cae fuera de esa zona, será rechazada y habrá que decantarse por la alternativa.

En la mayoría de los ensayos clínicos, es necesario comparar ciertas características en dos o más grupos de sujetos. Tanto si comparamos una población frente a otra, o cuando se plantea determinar los parámetros entre la misma población en dos circunstancias distintas.

Esencialmente, cuando se comparan dos o más grupos de análisis pueden darse dos tipos de diseños:

1. Cuando las observaciones se refieren a dos grupos independientes de individuos
2. Cuando cada serie de datos se recoge en los mismos sujetos bajo condiciones diferentes.

La metodología será distinta según el caso y se deberán consignar a su vez el tipo y distribución de los datos.

Para grupos independientes, el método requiere que las observaciones en cada grupo obtengan una variabilidad semejante. Así si no se cumple este parámetro, se recomienda su transformación en series logarítmicas, raíces

cuadradas, etc.<sup>123</sup> En ese caso, se deberían emplear métodos no paramétricos.<sup>124</sup>

En estas circunstancias, un número suficiente de observaciones (mayor de 30) justifica la utilización del test y no se necesita recurrir a histogramas, gráficos de normalidad, etc. Asimismo, este tipo de metodología exigirá que la varianza en ambos grupos de observaciones sea la misma.

Contrariamente, las series dependientes se establecen cuando se evalúa un mismo dato más de una vez en cada sujeto de la muestra. Es el caso de nuestro estudio, en donde los datos recogen si realmente se produce una mejoría significativa en las constantes físicas de la piel en esos individuos, para lo que se realiza en cada sujeto una determinación antes y después de someterse al tratamiento.

El t de Student para datos apareados o muestras relacionadas compara las medias de un mismo grupo y calcula las diferencias entre la primera y la segunda medición. Se suele conocer como pruebas “Ex-Post” (Antes y Después).

En este tipo de análisis el interés no se centra en la variabilidad que puede existir entre los individuos, sino en las diferencias que se observan en un mismo sujeto entre un momento y otro. Por este motivo, resulta intuitivo trabajar con la diferencia entre ambas observaciones, frente a la alternativa de que las determinaciones sean o no más importantes.

---

<sup>123</sup> Bland JM, Altman DG. The use of transformation when comparing two means. BMJ. 1996. 4; 312(7039):1153

<sup>124</sup> Moreno V, Vallescar R, Martín M. Las pruebas no paramétricas en el análisis estadístico de datos. Aten Primaria 1991; 8 (1): 58-60

La veracidad de dicha hipótesis puede ser contrastada igualmente mediante el test  $t$  de Student. Como se ha descrito, este tipo de métodos tienen como hipótesis fundamental la normalidad de los datos. En este caso, sin embargo, no será necesario que las observaciones en ambos grupos provengan de poblaciones normales, sino que únicamente se requiere verificar la normalidad de su diferencia.<sup>125</sup>

Usualmente se toma como referencia el rango de datos en la normalidad en el 95% de la probabilidad. El valor de  $p$  que comúnmente reportan la mayoría de paquetes estadísticos, es la probabilidad de obtener un dato en la distribución más extremo que el que proporciona el test. Refleja a su vez la probabilidad de obtener los datos observados si fuese cierta la hipótesis inicial.

Si el valor  $p$  es muy pequeño (usualmente se considera  $p < 0,05$ ) es probable que se cumpla la hipótesis de partida. La región de aceptación corresponde por lo tanto a los valores centrales de la distribución para los que  $p < 0,05$ .

## 5.

Se expondrán los resultados de inocuidad y de eficacia de los preparados dermatológicos empleados en la experiencia.

## RESULTADOS DE INOCUIDAD

Se determinó la inocuidad de los preparados empleando las técnicas

---

<sup>125</sup> Pértiga Díaz S, Pita Fernández S. Métodos paramétricos para la comparación de dos medias.  $t$  de Student. Atención Primaria en la Red. [www.fisterra.com](http://www.fisterra.com)

descritas de Patch test e In-Use test.

## PATCH TEST

Ningún voluntario mostró positividad alguna, tanto de reacción irritante como de sensibilidad por lo que en ambos casos el índice de reacción primaria fue cero. Esto es, el índice de irritación cutánea (IIP) resulto 0,00.

## IN-USE TEST

Los resultados individuales obtenidos se muestran en la Tabla 6. No se observó irritación o sensibilización o reacciones urticarioras durante el periodo de realización. No se observó ningún efecto tóxico sistémico.

	Media	DS
1.- Puntuación general	<b>7,4</b>	2,5
2.- Puntuación de la Emulsión Hidratante Facial	<b>7,1</b>	2,7
3.- Puntuación de la Máscara Facial	<b>9,0</b>	1,9
4.- Puntuación del color de la línea cosmética	<b>6,2</b>	2,9
5.- Puntuación del olor de la línea cosmética	<b>5,4</b>	2,8
6.- Puntuación de los envases	<b>5,1</b>	3,3
7.- Eficacia cosmética	<b>7,3</b>	2,5
<b>Media y desviación estándar</b>	<b>7,0</b>	1,5
<b>95% Intervalo de confianza= Media ±</b>		0,9
<b>Varianza</b>	1,3	

**Tabla 5: Resultados de la prueba In-Use test.**

Se determinó la media de cada una de las preguntas del cuestionario y su desviación estándar, la mayor puntuación la obtuvo la complacencia cosmética de la Máscara Facial ( $9,0 \pm 1,9$ ).

La valoración global del conjunto de preguntas obtuvo una puntuación de  $7,0 \pm 1,5$  lo que permite calificar al conjunto de la línea cosmética como "BUENA".

Se determinó a su vez el intervalo de confianza (para el 95%) y la varianza de la suma de todas las preguntas lográndose una confianza en la determinación para el 95% de  $7,0 \pm 0,9$ , con una varianza de 1,3.

## RESULTADOS DE EFICACIA

La Tabla 7 compendia los resultados obtenidos en el conjunto total de los voluntarios y los porcentajes de aumento o disminución de los valores. Estos resultados son compatibles con nuestras experiencias anteriores.<sup>126</sup>

La cantidad de sebo fue siempre significativa en todas las determinaciones y se aprecia una discreta disminución de su cantidad que posteriormente se estabiliza. Contrariamente, las mediciones del pH nunca fueron significativas y no se aprecia alteración del mismo tras la implantación del tratamiento.

Los valores de pérdida de agua de la piel siempre fueron significativos y se aprecia tras 15 días de implantación del tratamiento un descenso considerable en la pérdida transepidérmica de agua, esto es, un aumento en la función barrera cutánea.

---

<sup>126</sup> Mourelle MM, Carbajo JM, López-Delgado MI, Gómez CP, Maraver F. Evaluación de los cambios en la piel tras la aplicación de una emulsión facial con sales de la capuchina mediante métodos de bioingeniería cutánea. An Hidrol Med. 2008-2010; 3: 61-77

	Uf: Distensibilidad (Indirecto)	Ua/Uf: Elasticidad bruta (Directo)	Uv/Ue: Viscoelasticidad (Indirecto)	Uf <sub>10</sub> -Uf <sub>1</sub> : Fatiga cutánea (Indirecto)	RTT (Indirecto)	TEWL	pH	Sebo
0 días	0,2075	0,6531	1,206	0,0888	79	17,1	5,18	66,3
SD	0,0862	0,1071	0,3937	0,0268	15,6	5,0	0,31	22,4
15 días	0,2029*	0,7191 <sup>ns</sup>	1,1936 <sup>ns</sup>	0,0933 <sup>ns</sup>	79,8 <sup>ns</sup>	16,4*	5,23 <sup>ns</sup>	60,3*
SD	0,0974	0,0985	0,3900	0,0272	14,3	4,8	0,23	20,7
% respecto a basal	-2%*	10% <sup>ns</sup>	-1% <sup>ns</sup>	5% <sup>ns</sup>	1% <sup>ns</sup>	-4%*	1% <sup>ns</sup>	-9%*
p=	0,040	0,065	0,579	0,072	0,105	0,045	0,420	0,018
30 días	0,2033*	0,7720*	1,1791 <sup>ns</sup>	0,1118 <sup>ns</sup>	77,3*	13,2*	5,12 <sup>ns</sup>	62,9*
SD	0,0789	0,1003	0,3268	0,0289	13,9	3,9	0,25	18,3
% respecto a basal	-2%*	18%*	-2% <sup>ns</sup>	26% <sup>ns</sup>	-2%*	-23%*	-1% <sup>ns</sup>	-5%*
p=	0,048	0,043	0,654	0,053	0,030	0,010	0,153	0,023
60 días	0,1987*	0,7839*	1,1331 <sup>ns</sup>	0,1122*	75,0*	13,6*	5,20 <sup>ns</sup>	61,7*
SD	0,0774	0,0899	0,3275	0,0266	14,7	4,0	0,32	16,7
% respecto a basal	-4%*	20%*	-6% <sup>ns</sup>	26%*	-5%*	-20%*	0% <sup>ns</sup>	-7%*
p=	0,010	0,001	0,755	0,001	0,004	0,002	0,270	0,039
90 días	0,1967*	0,7773*	1,1442 <sup>ns</sup>	0,1154*	74,1*	13,5*	5,13 <sup>ns</sup>	62,1*
SD	0,0846	0,0868	0,3569	0,0223	12,8	3,7	0,21	13,7
% respecto a basal	-5%*	19%*	-5% <sup>ns</sup>	30%*	-6%*	-21%*	-1% <sup>ns</sup>	-6%*
p=	0,001	0,000	0,883	0,001	0,005	0,000	0,280	0,036

**Tabla 6: Resultados de la evolución de las diferentes variables registradas antes del tratamiento (BASAL), a los 15, 30, 60 y 90 días de tratamiento. (ns: no significativo; \*: p < 0.05)**

La densidad cutánea aumentó con la implantación de tratamiento y lo hizo discretamente a partir de los treinta días de tratamiento, parámetro que fue el primero que obtuvo significancia.

Los valores reológicos de la piel, excepto la viscoelasticidad que nunca fue significativa, resultaron positivos y significativos en la mayoría de las determinaciones. La distensibilidad, la elasticidad bruta y la fatiga cutánea, mejoraron de una forma evidente.

## 6.

Los preparados estudiados y a la vista de los resultados, demostraron ser inocuos y eficaces para los fines que se persiguen.

### **INOCUIDAD DE LOS PREPARADOS**

De los resultados obtenidos podemos concluir que la línea cosmética obtiene una calificación global de  $7,0 \pm 1,5$  lo que la hace calificar como "BUENA".

Que si excluimos los factores organolépticos: color, olor y envases que suelen ser contradictorios en todos los test, la puntuación obtenida por el contenido resultaría mayor de  $7,5 \pm 0,3$  – "MUY BUENA", siendo la referencia Máscara Facial ( $9,0 \pm 1,9$  – "EXCELENTE") el producto mejor valorado.

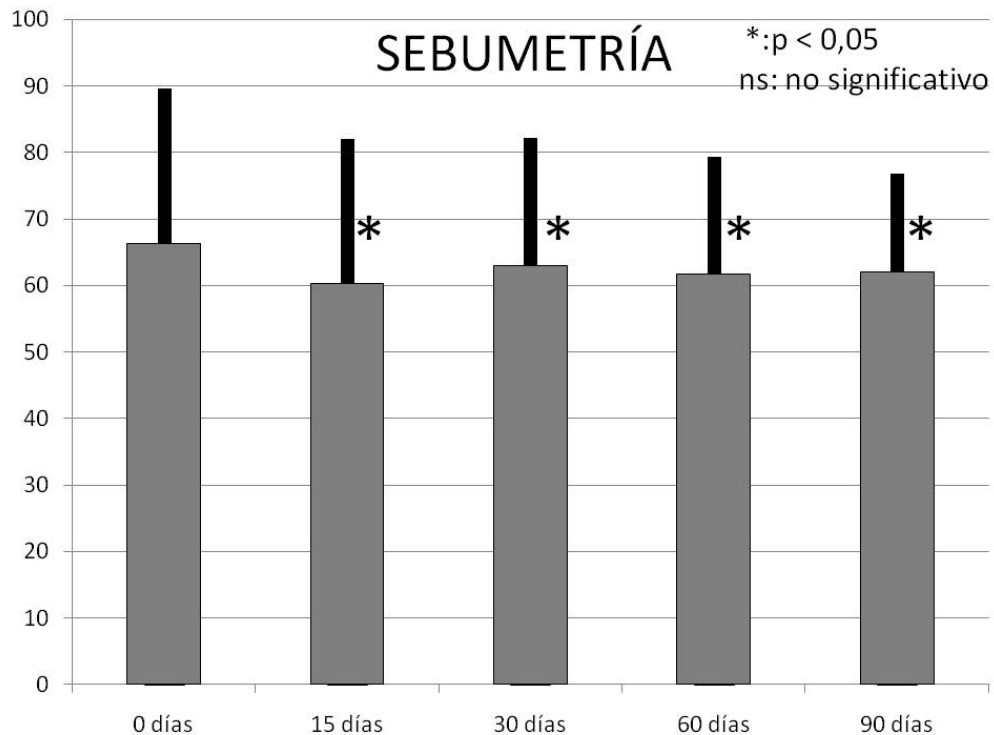
La pregunta 1 y la pregunta 7 que pueden considerarse similares, obtienen resultados similares globalmente. Ello permite reafirmar lo ajustado de las contestaciones del test.

De esta forma y en comparación con otros test de otras líneas cosméticas, las puntuaciones en color, olor e idoneidad de los envases pueden considerarse normales y muestran, como también es normal, una desviación estándar alta si se compara con el valor absoluto.

### **EFICACIA DE LOS PREPARADOS**

El análisis de los datos de sebumetría determina que tras la aplicación del tratamiento se regula la cantidad de sebo desde la primera aplicación, descendiendo entre un 5 y 9% el valor obtenido en las diferentes

determinaciones.



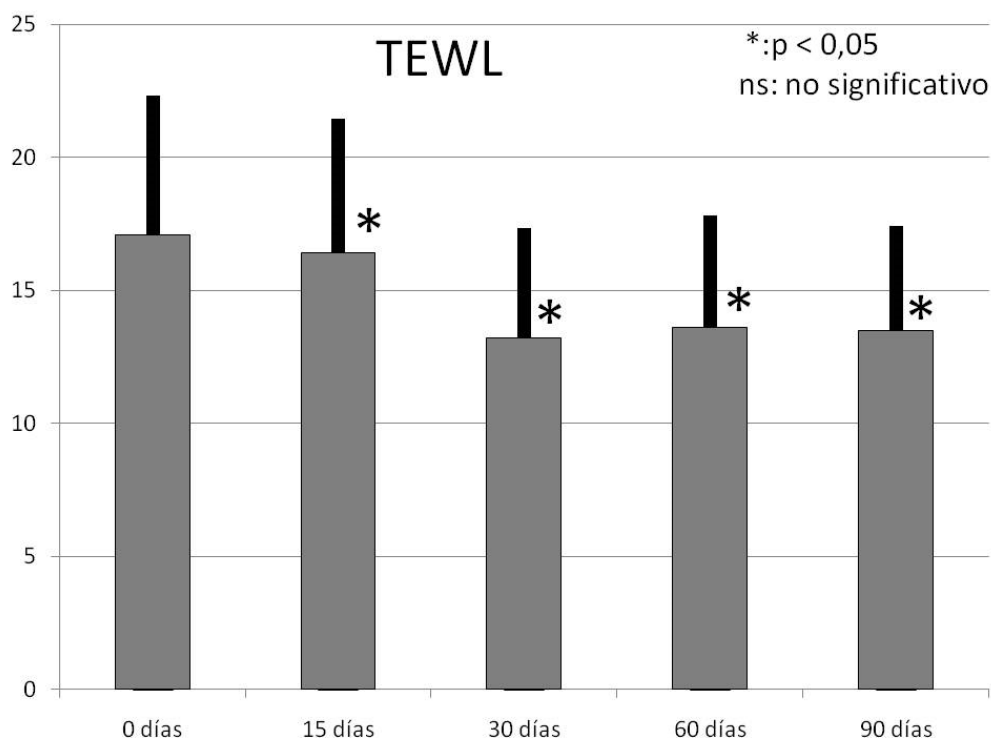
**Gráfico 19: Comparación de los resultados de Sebumetría antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0.05$ ).**

Este resultado muestra que la aplicación del tratamiento con los preparados dermatológicos derivados de las sales de Lanjarón-Capuchina, tiene capacidad de normalizar el exceso de grasa en las pieles que tienen un exceso. Se ha podido comprobar también, que las pieles con menor cantidad de grasa este fenómeno es inapreciable.

La pérdida de agua transepidérmica (TEWL) disminuye muy significativamente a partir de los 30 días de tratamiento, pasando de  $17,1 \pm 5,0$  a  $13,2 \pm 3,9$ , esto es, un 23% por debajo del valor basal, lo que coincide con la experiencia de otros autores. (van Kemenade PM 2004) El valor de pérdida transepidérmica de agua tiene influencia sobre la función barrera cutánea y consecuentemente sobre absorción cutánea, por lo que puede influir sobre las



propiedades biomecánicas de la piel.<sup>127</sup>



**Gráfico 20: Comparación de los resultados de Evaporimetría antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \* p < 0.05).**

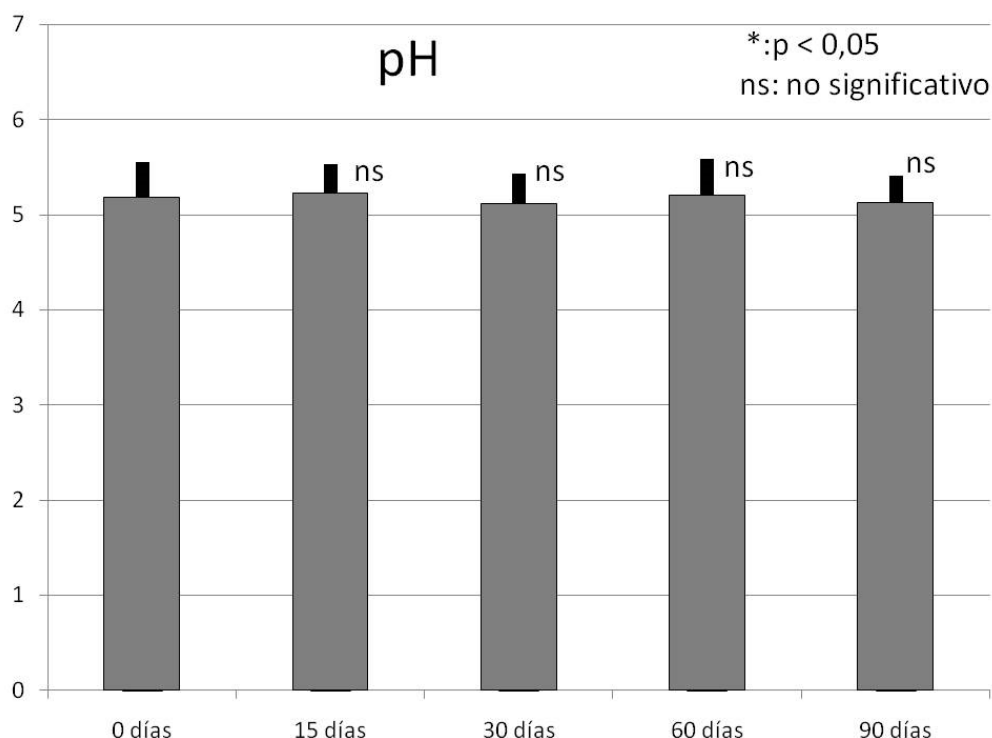
Este resultado puede esperarse por el poder de solvatación de las sales de La Capuchina y su capacidad de retención de la humedad y como es lógico, se evapora menor cantidad de humedad. El resultado indica que no existe pérdida de la función barrera cutánea por la acción del preparado dermatológico y no se produce una reacción irritativa como consecuencia de componentes inadecuados o por extra-hidratación.<sup>128</sup>

Por lo previsible, los resultados obtenidos de la determinación del pH proporcionan poca información. Tras la aplicación de tratamiento, se eleva

<sup>127</sup> Levin J, Maibach H. The correlation transepidermal water percutaneous absorption- overview. J Control Release. 2005; 103(2): 291-9

<sup>128</sup> Uhoda E, Piérard GE. Irritation cutanée et vitesse de propagation d'ondes ultrasonores. Int J Cosmet Sci. 2003; 25(1-2): 31-5

discretamente el pH cutáneo de  $5,18 \pm 0,31$  a  $5,23 \pm 0,23$ .



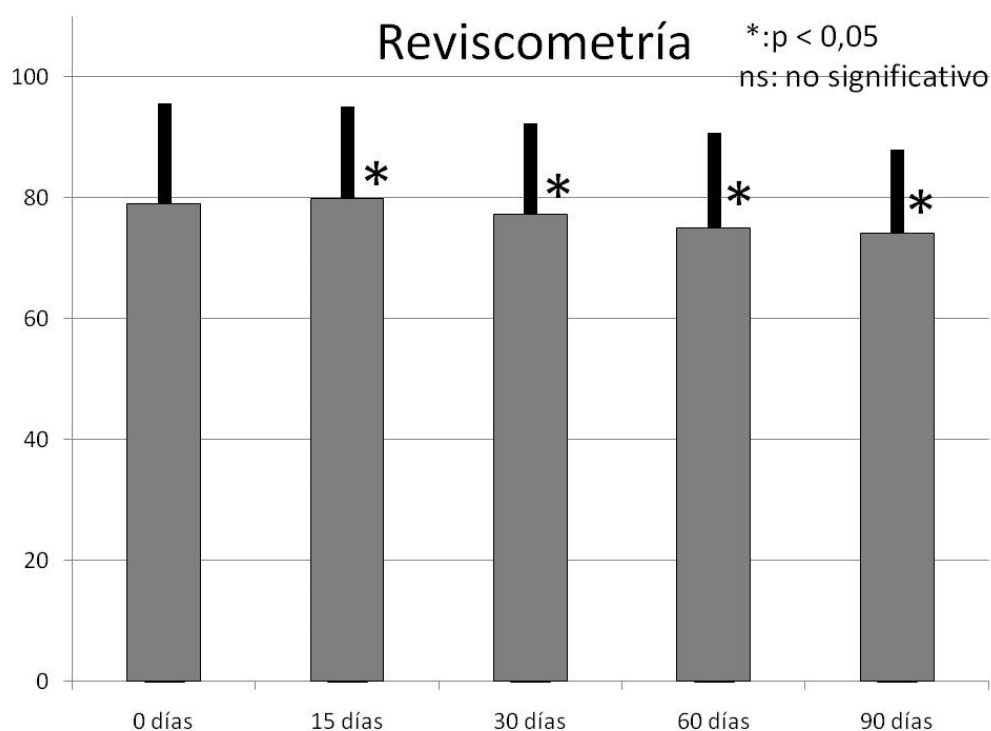
**Gráfico 21: Comparación de los resultados de pH antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0,05$ ).**

Sin embargo, las determinaciones a los 30, 60 y 90 días contradicen los resultados iniciales. El efecto tampón cutáneo tiene preponderancia a las posibles alteraciones que los preparados dermatológicos pudieran producir.<sup>129</sup>

Los resultados que proporcionan las determinaciones a través de Reviscometría son significativos y existen diferencias apreciables una vez implantado el tratamiento.

---

<sup>129</sup> Zhai H, Chan HP, Farahmand S, Maibach HI. Measuring human skin buffering capacity: an in vitro model. Skin Res Technol. 2009; 15(4):470-5



**Gráfico 22: Comparación de los resultados de Reviscometría antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \* p < 0.05).**

De los resultados obtenidos con esta técnica puede colegirse que la densidad dérmica aumenta progresivamente con la implantación del tratamiento, esto es, disminuye la velocidad media total obtenida de las cuatro mediciones en las direcciones establecidas en el protocolo de medida.

La velocidad media antes de la implantación del tratamiento es  $79,0 \pm 15,6$  y disminuye progresivamente hasta  $74,1 \pm 12,8$  a los 90 días tras el empleo de los preparados dermatológicos, en concordancia con otros resultados.<sup>130</sup>

El tiempo que tarda desde el emisor al receptor, tiempo recorrido de resonancia (*RRT: Resonance Running time*), es muy dependiente de la

<sup>130</sup> Uhoda I, Faska N, Robert C, Cau- wenbergh G, Piérard GE. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. *Skin Res Technol* 2002; 8: 164– 167

dirección de las fibras elásticas de la piel. La RRT ha demostrado que es inversamente proporcional a la tensión de la piel y es sensible en la determinación de la turgencia y flexibilidad inducida por el empleo de preparados dermatológicos.<sup>131</sup>

Es bien conocido que el envejecimiento cutáneo origina una pérdida considerable en la elasticidad de la piel. Sin embargo, es difícil medir con precisión a largo plazo los cambios en las propiedades mecánicas ocasionadas por el envejecimiento. La elasticidad cutánea es un fenómeno anisotrópico, cuyas propiedades mecánicas dependen de la dirección de medición. El reviscómetro permite determinar esta anisotropía global de la piel y a su vez, calcular la distribución de la RRT en las distintas direcciones. Los estudios realizados demuestran que mientras que la anisotropía se incrementa con la edad, el ancho de banda de dispersión disminuye. El comportamiento direccional de las propiedades mecánicas de la piel puede ser medida con precisión ponderando ambos parámetros, si bien, la anisotropía de las propiedades mecánicas cutáneas depende también de las líneas de menor tensión dérmicas definidas por Langer.<sup>132</sup>

No hemos conseguido establecer una relación entre la redensificación dérmica y la distribución del RTT en las distintas direcciones. Sin embargo, la técnica, en concordancia con lo que indican otros autores, mostró sensibilidad suficiente para esta experiencia, especialmente en el valor de anisotropía

---

<sup>131</sup> Paye M, Mac-Mary S, Elkhyat A, Tarrit C, Mermet P and Humbert PH. Use of the Reviscometer® for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Research and Technology*. 2007; 13: 343-349

<sup>132</sup> Songa SP, Elias PM, Lv CZ, Shi YJ, Guang P, Zhang XJ, Feingold KR, Man MQ. Decreased Cutaneous Resonance Running Time in Cured Leprosy Subjects. *Skin Pharmacol Physiol* 2009; 22: 218-224

total.<sup>133</sup>

En lo que respecta a los indicadores biomecánicos, hay que tener especial cuidado con los resultados obtenidos, pues por un lado, no representan el comportamiento de un material estrictamente elástico, no teniendo por lo tanto un equivalente fisiológico directo y por otro, envuelven no sólo la epidermis y dermis sino también los tejidos subyacentes de soporte.<sup>134</sup>

De los parámetros directos e indirectos proporcionados por el sistema, hemos optado por considerar únicamente la  $U_f$  (extensibilidad total de la piel), la relación  $U_a/U_f$  (elasticidad máxima de la piel), la viscoelasticidad cutánea  $U_v/U_e$ , así como la fatiga a la succión, esto es, la diferencia entre los valores de  $U_f$  tras diez succiones frente al valor inicial.

Excepto en un caso, de los indicadores biomecánicos en estudio, todos los resultados obtuvieron puntuaciones estadísticamente significativas con el tratamiento efectuado, lo que está en concordancia con algunas otras experiencias anteriormente publicados,<sup>135</sup> en los que se sugiere la mejoría de las propiedades mecánicas de la piel cuando se trata con preparados dermatológicos. (Tabla III)

Con relación a la extensibilidad máxima de la piel ( $U_f$ ), el efecto es significativo en todos los tiempos de medición, lo que sugiere que el tratamiento, provoca una disminución de la extensibilidad total de la piel,

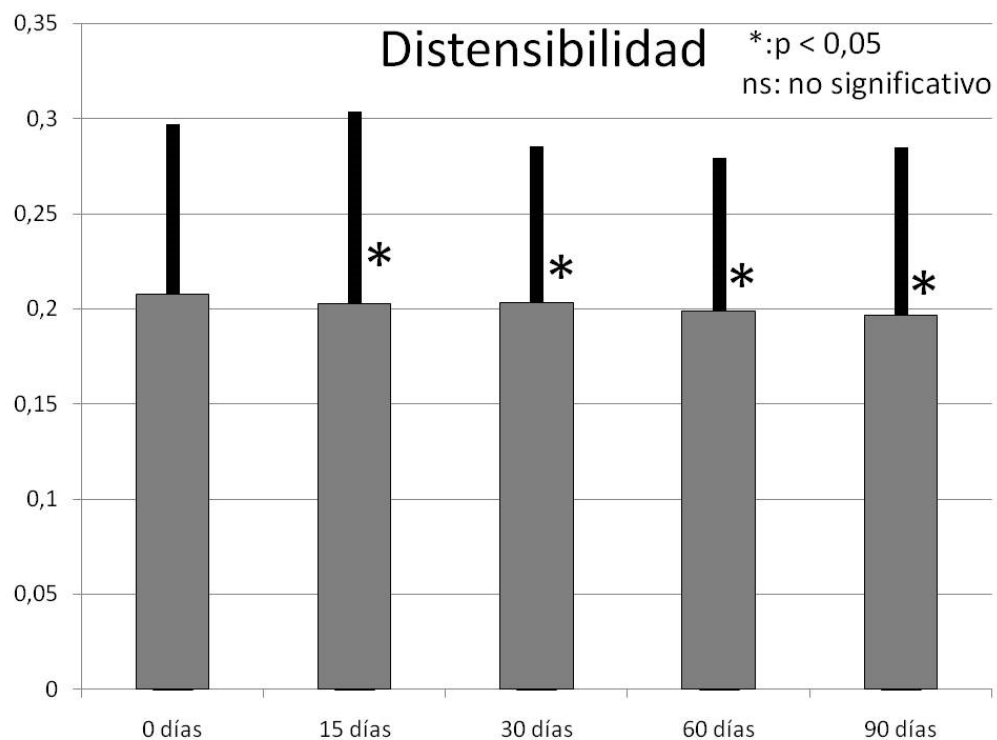
---

<sup>133</sup> Verhaegen PD, Res EM, van Engelen A, Middelkoop E and van Zuijlen PM. A reliable, non-invasive measurement tool for anisotropy in normal skin and scar tissue. *Skin Res Technol.* 2010; 16(3): 325-31

<sup>134</sup> Rodrigues L and the EEMCO Group. EEMCO guidance to the in vivo Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 2, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 2001; 14: 52-67

<sup>135</sup> Rodrigues LM, Pinto PC. Análisis de la influencia del grado de hidratación de la epidermis en el comportamiento biomecánico de la piel in vivo. *Ars Pharmaceutica.* 2004; 45(1): 59-71

tanto a corto como a largo plazo. Ello significa que la epidermis opone una mayor resistencia a la deformación por succión, esto es posee una mayor turgencia.<sup>136</sup>

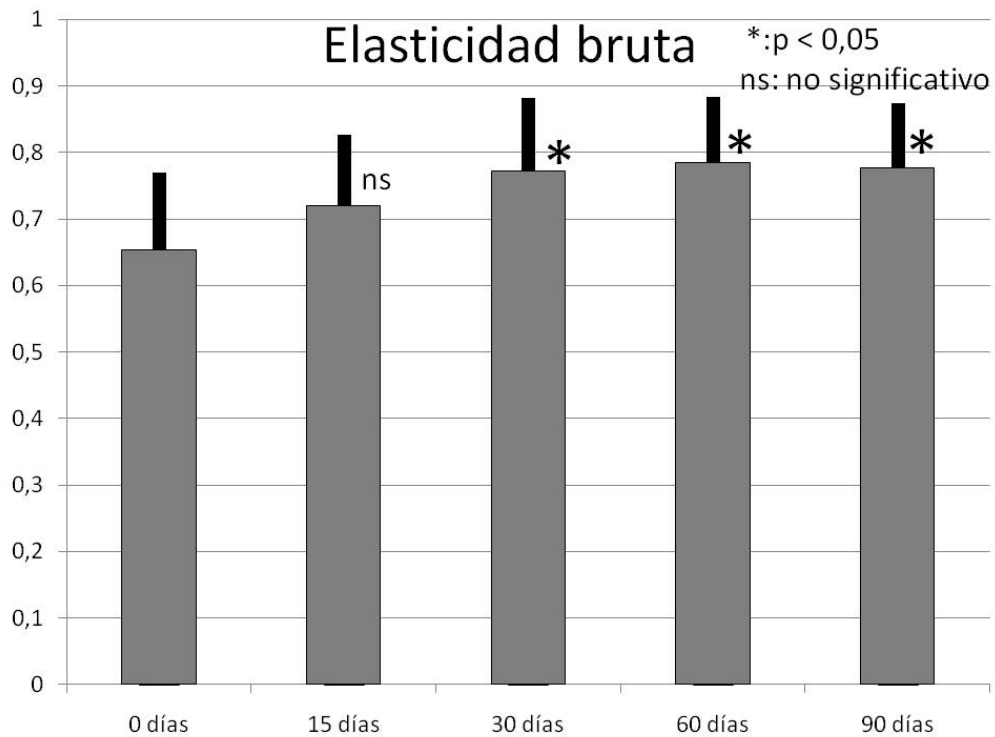


**Gráfico 23: Comparación de los resultados de Distensibilidad cutánea (Uf) antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0.05$ ).**

La elasticidad máxima  $Ua/Uf$  determina la porción entre amplitud máxima y capacidad de redeformación de la piel. En nuestro estudio aumenta considerablemente, especialmente después de un mes de tratamiento, pasando de  $0,6531 \pm 0,1071$  a  $0,7720 \pm 0,1003$ , un 18% por encima, estabilizándose a los 60 y 90 días. La determinación a los 15 días, aunque mantiene la sintonía con las determinaciones posteriores, no presenta

<sup>136</sup> Smalls LK, Randall Wickett R, Visscher MO. Effect of dermal thickness, tissue composition, and body site on skin biomechanical properties. Skin Res Technol. 2006; 12(1):43-9

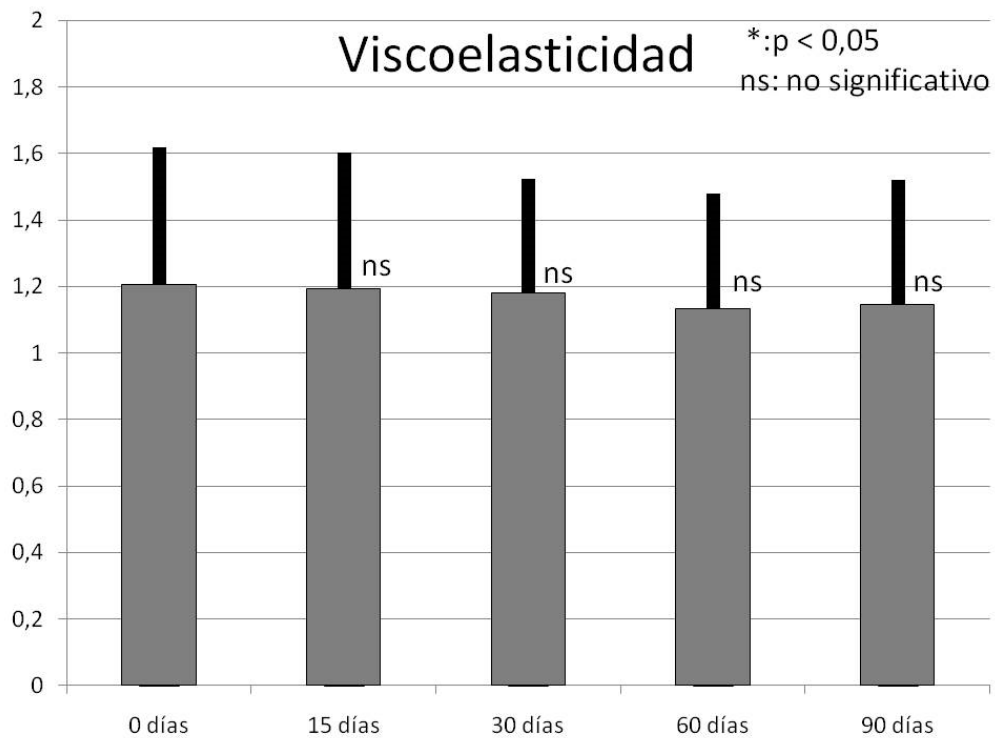
significancia estadística.<sup>137</sup>



**Gráfico 24: Comparación de los resultados de Elasticidad bruta ( $U_a/U_f$ ) antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0.05$ ).**

La viscoelasticidad cutánea ( $U_v/U_e$ ) estudia la porción de la viscoelasticidad con respecto a la parte elástica de la curva. De tal forma que cuando sus valores son más bajos, mayor es el módulo elástico cutáneo. En consecuencia, el tratamiento con los preparados dermatológicos de Lanjarón estimulan el módulo elástico cutáneo en detrimento del plástico.<sup>45</sup> Sin embargo estos valores aunque mantienen una sincronía y lógica evolución, no presentan significancia estadística.

<sup>137</sup> Dobrev HP. A study of human skin mechanical properties by means of Cutometer. Folia Med (Plovdiv). 2002; 44(3):5-10



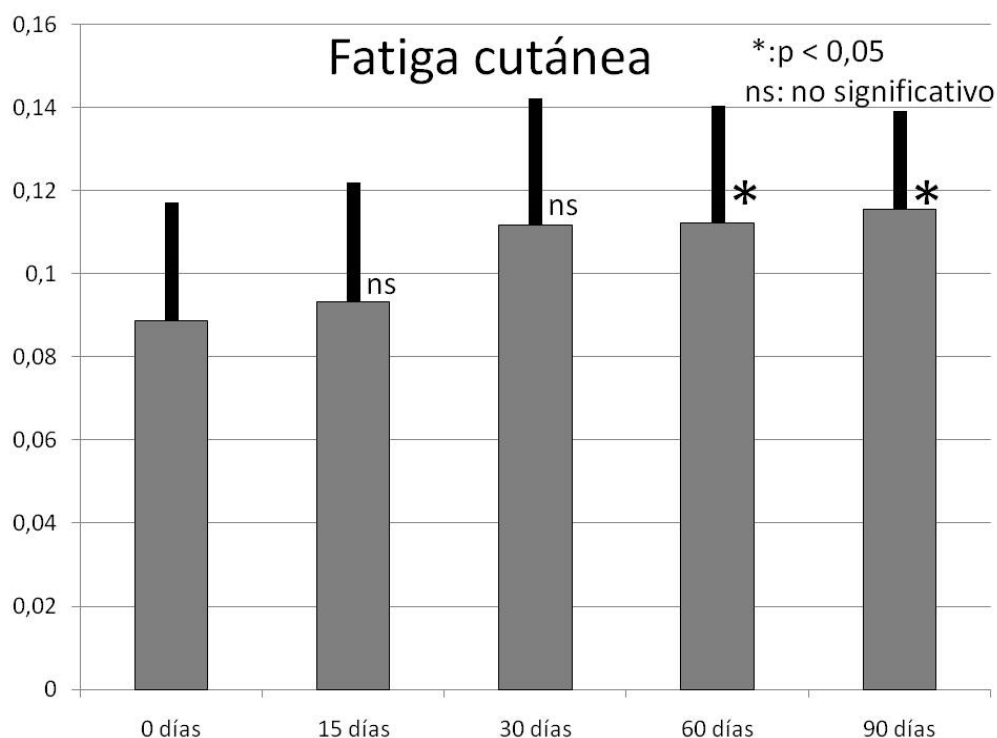
**Gráfico 25: Comparación de los resultados de Viscoelasticidad cutánea (Uv/Ue) antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0.05$ ).**

La fatiga cutánea por succión reiterada pone de manifiesto los efectos del cansancio de la piel tras repetidas operaciones de succión por diferencia, en este estudio, de los valores de Uf tras 10 succiones en comparación con el valor inicial. Cuanto mayor sea el valor obtenido, la piel presentará menor fatiga cutánea.<sup>138</sup>

En nuestro caso, los resultados son muy adecuados para un tratamiento cosmético.

<sup>138</sup> Dobrev H. Application of Cutometer area parameters for study human skin fatigue. Skin Res Technol 2005, 11 (2): 120-2





**Gráfico 26: Comparación de los resultados de Fatiga cutánea antes, y a los 15, 30, 60 y 90 días de instauración del tratamiento. (ns: no significativo ; \*  $p < 0.05$ ).**

Inmediatamente después de implantar tratamiento ya se detecta un 5% de disminución en la fatiga cutánea, cuyo valor pasa de una Uf basal de  $0,0888 \pm 0,0268$  a  $0,0933 \pm 0,0272$  y se corrobora este buen resultado a los 30 días, con una disminución de la fatiga cutánea de un 26% sobre la basal.

Sin embargo, estos resultados no obtienen significancia estadística, y no es hasta las determinaciones realizadas a los 60 y 90 días hasta cuando se obtiene tal significación. En cualquier caso, los valores absolutos en el descenso de la fatiga cutánea tras los 60 días de tratamiento, se mantienen en el 26% y aumentan ligeramente hasta el 30% de disminución a los 90 días de tratamiento. Estos resultados corroboran estudios anteriormente publicados

para moléculas higroscópicas.<sup>139</sup>

---

<sup>139</sup> Overgaard L, Jemec GBE. The Influence of Water, Glycerin, Paraffin Oil and Ethanol on Skin Mechanics. *Acta Derm. Venereol* (Stockh), 1993; 73: 404-406

## 7.

De la aplicación de la Emulsión Hidratante y la Máscara Facial de la línea dermatológica del Balneario de Lanjarón se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1ª Los preparados dermatológicos preparados con las sales de Lanjarón-Capuchina son inocuos y saludables para la piel, y tras la implantación de tratamiento en el rostro:
- 2ª Se normaliza la secreción sebácea sin afectar a la función barrera cutánea.
- 3ª Disminuye considerablemente la pérdida transepidérmica de agua a partir de los 30 días de tratamiento. Esto es, se favorece la función barrera cutánea.
- 4ª No se afecta el pH cutáneo por la implantación del tratamiento.
- 5ª Origina un aumento significativo de la densidad dérmica, que empieza a manifestarse de forma significativa tras un mes de tratamiento.
- 6ª Se origina un aumento de la resistencia de la piel a la succión (turgencia) a partir de los 15 días que asciende ligeramente hasta los 90 días.
- 7ª Aumenta considerablemente la elasticidad de la piel, que a los 30 días de tratamiento se cifra en un 20%, manteniéndose en estos valores hasta la finalización del estudio.
- 8ª Disminuye considerablemente la fatiga cutánea ocasionada por succión reiterada, un 30% respecto al valor basal.

9ª Globalmente la aplicación del tratamiento, normaliza la cantidad de sebo cutáneo, sin alterar grandemente la ecología y función barrera cutáneas, favoreciendo de forma clara las propiedades biomecánicas de la piel, especialmente los parámetros que se modifican por el paso del tiempo.

## 8.

Agre P and Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. FEBS Lett, 2003; 555: 72–78

Alexander RT, Grinstein S. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchangers and the regulation of volume. Acta Physiol 187: 159–167, 2006

Bacle I, Meges S, Lauze C, Macleod P, Dupuy P. Sensory analysis of four medical spa spring waters containing various mineral concentrations. Int J Dermatol. 1999;38:784–786

Barros LF, Hermosilla T, Castro J. Necrotic volume increase and the early physiology of necrosis. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2001;130(3): 401-9

Bland JM, Altman DG. The use of transformation when comparing two means. BMJ. 1996. 4; 312(7039):1153

Boisnic S, Branchet-Gumila MC, Segard C. Inhibitory effect of Avene spring water on vasoactive intestinal peptide-induced inflammation in surviving human skin. Int J Tissue React. 2001; 23(3):89-95

Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. Biochim Biophys Acta. 2006; 1758(12), 2080-95

Brouard M, Casado M, Djelidi S, Barrandon Y, Farman N. Epithelial sodium channel in human epidermal keratinocytes: expression of its subunits and relation to sodium transport and differentiation. J Cell Sci. 1999; 112 (Pt

19):3343-52

Burg MB, Kwon ED, and Kültz D. Regulation of gene expression by hypertonicity. *Annu Rev Physiol*, 1997; 59: 437–455

Calvo E, Luu-The V, Morissette J et al. Pangenomic changes induced by DHEA in the skin of postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008; 112: 186– 193

Carbajo JM. Cosmética Osmótica del balneario de Lanjarón. *An Hidrol Med*. 2007; 2: 47-64

Carbajo JM. Limpieza cosmética e higiene. En *Atención Farmacéutica en Dermofarmacia: Módulo I, Plan Nacional de Formación Continuada. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. BGA Asesores. Madrid* 2008, Págs.159-200

Celerier P, Litoux P, Dreno B, Richard A. Modulatory effects of selenium and strontium salts on keratinocyte-derived inflammatory cytokines. *Arch Dermatol Res*. 1995; 287(7): 680-682

Chamberlin ME and Strange K. Anisosmotic volume regulation: a comparative view. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1989; 257: 159–173

Choi CW, Choi JW, Park KC, Youn SW. Facial sebum affects the development of acne, especially the distribution of inflammatory acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011; 27(3): 301-6

Choi JW, Kwon SH, Huh CH, Park KC, Youn SW. The influences of skin visco-

elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: a comprehensive and objective approach. *Skin Res Technol.* 2013; 19(1): 349-55

Degim Z, Celebi N, Sayan H, Babul A, Erdogan D, Take G. An investigation on skin wound healing in mice with taurine-chitosan gel formation. *Aminoacids.* 2002; 22:187-98

Delaire PL, Richard A, Dubreuil A, Graber-Duvernay B. Enquêtes sur le service médical rendu par la dermatologie thermal. *Presse Ther Climat.* 2003;140:145–153

Delgado R, Fernández-González MV, Gámiz E, Martín-García JM, Márquez R, Delgado G. Evolución de la ultramicrofábrica de los peloides en el proceso de maduración. *An Hidrol Med.* 2011; 4: 81-91

Denda M, Fuziwara S, Inoue K. Influx of calcium and chloride ions into epidermal keratinocytes regulates exocytosis of epidermal lamellar bodies and skin permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol.* 2003; 121(2): 362-7

Diridollou S, de Rigal J, Querleux B, Leroy F, Holloway Barbosa V. Comparative study of the hydration of the stratum corneum between four ethnic groups: influence of age. *Int J Dermatol.* 2007; 46 Suppl 1: 11-4

Dobrev H. Application of Cutometer area parameters for study human skin fatigue. *Skin Res Technol* 2005, 11 (2): 120-2

Dobrev HP. A study of human skin mechanical properties by means of Cutometer. *Folia Med (Plovdiv)*. 2002; 44(3):5-10

du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner M, Franken A, Kudla I, Holness L. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Res Technol*. 2013; 19(3): 265-78

Ehlers C, Ivens UI, Møller ML, Senderovitz T, Serup J. Females have lower skin surface pH than men. A study on the surface of gender, forearm site variation, right/left difference and time of the day on the skin surface pH. *Skin Res Technol*. 2001; 7(2): 90-4

Elsing C, Gosch I, Hennings JC, Hubner CA, Herrmann T. Mechanisms of hypotonic inhibition of the sodium, proton exchanger type 1 (NHE1) in a biliary epithelial cell line (Mz-Cha-1). *Acta Physiol*. 2007; 190: 199–208

Fernández-González MV, Gámiz E, Martín-García JM, Márquez R, Delgado G, Delgado R. Comportamiento térmico de peloides preparados con aguas mineromedicinales del Balneario de Lanjarón. Efecto del tiempo de maduración. *An Hidrol Med*. 2011; 4: 93-105

Fernández-González MV, Martín-García JM, Delgado G, Párraga J, Delgado R. A study of the chemical, mineralogical and physicochemical properties of peloids prepared with two medicinal mineral waters from Lanjarón Spa (Granada, Spain). *Appl Clay Sci*. 2013; 80-81: 107–116



Firooz A, Sadr B, Babakoochi S, Sarraf-Yazdy M, Fanian F, Kazerouni-Timsar A, Nassiri-Kashani M, Naghizadeh MM, Dowlati Y. Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender, and body region, The Scientific World Journal, vol. 2012, Article ID 386936, 2012.

Gomes C, Carretero MI, Pozo M, Maraver F, Cantista P, Armijo F, et al. Peloids and pelotherapy: Historical evolution, classification and glossary. Appl Clay Sci. 2013; 75-76:28-38.

Gorcea M, Hadgraft J, Lane ME, Moore DJ. In vivo barrier challenge and long-term recovery in human facial skin. Int J Cosmet Sci 2013; 35(3): 250-6

Greiner J, Diezel W.: [La capacidad del magnesio para inhibir la reacción inflamatoria en las reacciones de dermatitis de contacto] Hautarzt 1990; 41(11):602-5

Halevy S, Giryas H, Friger M, Grossman N, Karpas Z, Sarov B, Sukenik S. The role of trace elements in psoriatic patients undergoing balneotherapy with Dead Sea bath salt. Isr Med Assoc J. 2001; 3(11): 828-32

Hallows RH, Knauf PA. Principles of cell volume regulation. In Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation (Kevin Strange, ed), Boca Raton : CRC Press. 1995; 3-29

Hanada K, Akita N, Hashimoto I.: [Dermatitis por deficiencia de magnesio, cambios en el nivel de leucotrienos y efectos del cloruro de ofazelaína sobre la dermatitis y leucotrienos B<sub>4</sub>] Nippon Hifuka Gakkai Zasshi, 1990; 100:7, 757-60

- Hanada K, Mitsuhashi Y, Hashimoto I.: Inhibitory effect of the leukotriene B4 receptor antagonist against hypomagnesian diet-induced dermatitis in hairless rats. *J Dermatol* 1992; 19(8):456-60
- Hartmann BR, Bassenge E, Pittler M. Effect of carbon dioxide-enriched water and fresh water on the cutaneous microcirculation and oxygen tension in the skin of the foot. *Angiology*. 1997; 48: 337–343
- Häussinger D. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem J* 1996; 313: 697-710
- Henn MR, Lopes P, Branco B, Fraiz JA, Gonçalves JM. La importancia de la cosmética termal para los balnearios y el turismo termal: el caso de la Comunidad Autónoma de Galicia-España. *PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*. 2011; 9(1): 25-35
- Hermanns-Le T, Jonlet F, Scheen A, Piérard GE. Age and body mass index-related changes in cutaneous shear wave velocity. *Exp Gerontol* 2001; 36: 363–372
- Hoffman DR, Kroll LM, Basehoar A, Reece B, Cunningham CT, Koenig DW. Immediate and extended effects of sodium lauryl sulphate exposure on stratum corneum natural moisturizing factor. *Int J Cosmet Sci*. 2013 Oct 24. doi: 10.1111/ics.12101
- Hoffmann EK, Dunham PB. Membrane mechanisms and intracellular signalling in cell volume regulation. *Int Rev Cytol*. 1995; 161, 173-262

Hoffmann EK, Lambert IH, Pedersen SF. Physiology of Cell Volume Regulation in Vertebrates. *Physiol. Rev.* 2009; 89: 193-277

Horii Y, Tanida M, Shen J, Fujisaki Y, Fuyuki R, Hashimoto K, Nijima A, Nakashima T, Nagai K. Skin application of urea-containing cream affected cutaneous arterial sympathetic nerve activity, blood flow, and water evaporation. *Skin Res Technol.* 2011; 17(1): 75-81

Jakab M, Furst J, Gschwentner M, Botta G, Garavaglia ML, Bazzini C, Rodighiero S, Meyer G, Eichmueller S, Woll E, Chwatal S, Ritter M, Paulmichl M. Mechanisms sensing and modulating signals arising from cell swelling. *Cell Physiol Biochem.* 2002; 12: 235-258

Junankar PR and Kirk K. Organic osmolyte channels: a comparative view. *Cell Physiol Biochem*, 2000; 10: 355–360

Jung JW, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. An 8-week face-split study to evaluate the efficacy of cosmeceuticals using non-invasive bioengineering devices. *Skin Research and Technology.* 2013; 19: 324–329

Jungersted JM, Scheer H, Mempel M, Baurecht H, Cifuentes L, Hogh JK, Hellgren LL, Jemec GBE, Agner T, Weidinger S. Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. *Allergy.* 2010; 65: 911–918

Kim BY, Choi JW, Park KC, Youn SW. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference - which is the major influencing factor for facial pores? *Skin Res Technol.* 2013; 19(1): 45-53

Korting GW, Holzmann H, Morsches B: [Sobre las diferencias en el contenido de magnesio en los eritrocitos en pacientes con eczema endógeno e ictiosis vulgaris] Arch Klin Exp Dermatol 1967; 229:2, 126-30

Lang F, Busch GL, Ritter M, Volkl H, Waldegger S, Gulbins E, and Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. Physiol Rev, 1998; 78: 247–306

Lang F, Waldegger S. Regulating cell volume. Am Sci 1997;85:456-463

Laudanska H, Lemancewicz A, Kretowska M, Reduta T, Laudanski T. Permeability of human skin to selected anions and cations--in vitro studies. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. 2002; 112(1-4):16-26

Léauté-Labrèze C, Saillour F, Chêne G, Cazenave C, Luxey-Bellocq ML, Sanciaume C, Toussaint JF, Taïeb A. Saline Spa Water or Combined Water and UV-B for Psoriasis vs Conventional UV-B. Arch Dermatol 2001; 137:1035-1039

Legido JL, Medina C, Mourelle ML, Carretero MI, Pozo M. Comparative study of the cooling rates of bentonite, sepiolite and common clays for their use in pelotherapy. Appl Clay Sci 2007; 36: 148-160

Levin CY, Maibach HI.: Do cool water or physiologic saline compresses enhance resolution of experimentally-induced irritant contact dermatitis? Contact Dermatitis 2001; 45(3):146-50

Levin J, Maibach H. The correlation transepidermal water percutaneous

- absorption- overview. J Control Release. 2005; 103(2): 291-9
- Lowe NY, Breeding Y, Russel D. Cutaneous polyamines in psoriasis. Br J Dermatol 1982; 107: 21-26
- Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Age-related changes in skin barrier function - quantitative evaluation of 150 female subjects. Int J Cosmet Sci. 2013; 35(2): 183-90
- Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Mechanical properties of human skin in vivo: a comparative evaluation in 300 men and women. Skin Res Technol. 2013; Article first published online: 25 JUL 2013
- Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. Int J Cosmet Sci. 2013; 35(5):477-83
- MacLeod RJ. How an epithelial cell swells is a determinant of the signaling pathways that activate RVD. In Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation (Kevin Strange, ed). 1994; pp. 191-200
- Maraver F, Armijo F. Vademécum II de aguas mineromedicinales españolas. Madrid: Ed. Complutense, 2010.
- Matz H, Orion E, Wolf R. Balneotherapy in dermatology. Dermatologic Therapy. 2003;16: 132-140
- McCarty NA, O'Neil RG. Calcium signaling in cell volume regulation. Physiol Rev. 1992; 72, 1037-1061

- Mizukoshi K, Akamatsu H. The investigation of the skin characteristics of males focusing on gender differences, skin perception, and skin care habits. *Skin Res Technol.* 2013; 19(2): 91-9
- Mizuno A, Mitsuiki M, Toba S and Motoki M. Antifreeze Activities of Various Food Components. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45 (1): 14-18
- Mohammed D, Matts PJ, Hadgraft J, Lane ME. Variation of stratum corneum biophysical and molecular properties with anatomic site. *AAPS J.* 2012; 14(4): 806-12
- Moreno V, Vallescar R, Martín M. Las pruebas no paramétricas en el análisis estadístico de datos. *Aten Primaria* 1991; 8 (1): 58-60
- Mourelle MM, Carbajo JM, López-Delgado MI, Gómez CP, Maraver F. Evaluación de los cambios en la piel tras la aplicación de una emulsión facial con sales de la capuchina mediante métodos de bioingeniería cutánea. *An Hidrol Med.* 2008-2010; 3: 61-77
- Neto P, Ferreira M, Bahia F, Costa P. Improvement of the methods for skin mechanical properties evaluation through correlation between different techniques and factor analysis. *Skin Res Technol.* 2013; 19(4): 405-416
- Niquet J, Allen S, Baldwin R, Wasterlain C. Evidence of caspase-3 activation in hyposmotic stress-induced necrosis. *Neurosc Lett.* 2004; 356: 225-227
- O'Neill WC. Physiological significance of volume-regulatory transporters. *Am J Physiol Cell Physiol.* 1999; 276: 995-1011

- Ohata U, Hara H, Suzuki H. 7 cases of hydrofluoric acid burn in which calcium gluconate was effective for relief of severe pain. *Contact Dermatitis*. 2005; 52(3): 133-7
- Ohshima H, Kinoshita S, Oyobikawa M, Futagawa M, Takiwaki H, Ishiko A, Kanto H. Use of Cutometer area parameters in evaluating age-related changes in the skin elasticity of the cheek. *Skin Research and Technology* 2013; 19: 238–242
- Ohshima H, Tada A, Kanamaru A, Akamatsu H, Sakai Y, Itoh M and Kanto H. Relevance of the directionality of skin elasticity to aging and sagging of the face. *Skin Res Technol* 2011; 17: 101–107
- Okada Y, Maeno E, Shimizu T, Dezaki K, Wang J, Morishima S. Receptor-mediated control of regulatory volume decrease (RVD) and apoptotic volume decrease (AVD). *J.Physiol* 2001; 532, 3-16
- Okada Y, Maeno E. Apoptosis, cell volume regulation and volume-regulatory Chloride channels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001; 130(3): 377-383
- Overgaard L, Jemec GBE. The Influence of Water, Glycerin, Paraffin Oil and Ethanol on Skin Mechanics. *Acta Derm. Venereol (Stockh)*, 1993; 73: 404-406
- Ozcelik S, Polat HH, Akyol M, Yalcin AN, Ozcelik D, Marufihah M. Kangal hot spring with fish and psoriasis treatment. *J Dermatol* 2000; 27: 386–390

- Pappas A, Fantasia J, Chen T. Age and ethnic variations in sebaceous lipids. *Dermatoendocrinol.* 2013; 5(2):3 19-24
- Parra JL, Paye M; EEMCO Group. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2003; 16(3): 188-202
- Paye M, Mac-Mary S, Elkhyat A, Tarrit C, Mermet P and Humbert PH. Use of the Reviscometer® for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Research and Technology.* 2007; 13: 343–349
- Pedersen PS. Influence of extracellular bicarbonate on the short-circuit current and intracellular free calcium of human cultured sweat duct cells. *Experimental Physiology* 1992; 77(6): 863-871
- Pereira JM, Mansour JM, Davis BR. Analysis of shear wave propagation in skin; application to an experimental procedure. *J Biomech* 1990; 23: 745–751
- Pérttega Díaz S, Pita Fernández S. Métodos paramétricos para la comparación de dos medias. t de Student. Atención Primaria en la Red. [www.fisterra.com](http://www.fisterra.com)
- Perusquía-Ortiz AM, Oji V, Sauerland MC, Tarinski T, Zaraeva I, Seller N, Metze D, Aufenvenne K, Hausser I, Traupe H. Complete filaggrin deficiency in ichthyosis vulgaris is associated with only moderate changes in epidermal permeability barrier function profile. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013 Dec;27(12):1552-8
- Piérard G and the EEMCO Group, EEMCO guidance to the in vivo Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 1, *Skin Pharmacol Appl Skin*



Physiol, 1999; 12:352-362

Piérard GE, Piérard S, Delvenne P, Piérard-Franchimont C. In vivo evaluation of the skin tensile strength by the suction method: pilot study coping with hysteresis and creep extension. ISRN Dermatology 2013, Article ID 841217

Piérard GE, Piérard-Franchimont C, Marks R, Paye M, Rogiers V. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin greasiness. The EEMCO Group. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 2000; 13(6): 372-89

Piérard GE. EEMCO guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 1: relevance to the structures and ageing of the skin and subcutaneous tissues. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 1999; 12(6):352-62

Piérard GE. Mechanical properties of aged skin: Indentation and Elevation experiments, in JL Lévêque & P.Agache Eds. "Aging Skin", Marcel Dekker Inc. 1993; Ch.5

Proksch E, Nissen HP, Bremgartner M, Urquhart C. Bathing in a magnesium-rich Dead Sea salt solution improves skin barrier function, enhances skin hydration, and reduces inflammation in atopic dry skin. Int J Dermatol. 2005; 44(2): 151-7

Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. Dermatol Ther. 2004; 17 Suppl 1, 43-8

Rodrigues L and the EEMCO Group. EEMCO guidance to the in vivo Assessment

- of tensile functional properties of the skin: Part 2, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 2001; 14: 52-67
- Rodrigues L. A avaliação biofísica da superfície cutânea: Indicadores fisiológicos da funcionalidade epidérmica, *Rev Port Farm*, 1995; Vol. XLV, nº 1: 16-23
- Rodrigues LM, Pinto PC. Análisis de la influencia del grado de hidratación de la epidermis en el comportamiento biomecánico de la piel in vivo. *Ars Pharmaceutica*. 2004; 45(1): 59-71
- Rogiers V. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2001; 14(2): 117-28
- Rosette C, Karin M. Ultraviolet light and osmotic stress: activation of the JNK cascade through multiple growth factor and cytokine receptors. *Science*. 1996; 274:1194-7
- Ruvolo EC Jr, Stamatatos GN, Kollias N. Skin viscoelasticity displays site- and age-dependent angular anisotropy. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 313–321
- Ryu HS, Joo YH, Kim SO, Park KC, Youn SW. Age and regional differences on skin elasticity. *Skin Research and Technology* 2008; 14: 354–358
- Said L, Serup J, Rebel C. Epidermal calcium release (ECR) in vivo sampled with a simple washout chamber technique. *Skin Res Technol*. 2002; 8(4): 219-26
- Sánchez C, Parras J, Carretero MI. The effect of maturation upon the

- mineralogical and phsicochemical properties of illitic-smectitic clays for pelotherapy. *Clay Minerals* 2002; 37, 457-463
- Sandford E, Chen Y, Hunter I, Hillebrand G, Jones L. Capturing skin properties from dynamic mechanical analyses. *Skin Res Technol.* 2013; 19(1): 339-48
- Schempp CM, Dittmar HC, Hummler D, Simon-Haarhaus B, Schulte-Monting J, Schopf E, Simon JC.: Magnesium ions inhibit the antigen-presenting function of human epidermal Langerhans cells in vivo and in vitro. Involvement of ATPase, HLA-DR, B7 molecules, and cytokines. *J Invest Dermatol.* 2000; 115(4):680-6
- Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol.* 2006; 19: 296–302
- Seirafi H, Farsinejad K, Firooz A, Davoudi SM, Robati RM, Hoseini MS, Ehsani AH, Sadr B. Biophysical characteristics of skin in diabetes: a controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 146–149
- Shani J, Kushelevsky AP, Harari M, Even-Paz Z. Sustained decreased of blood pressure in psoriatic patients during treatment at the Dead Sea. *Pharmacol Res* 1995; 31: 355–359
- Shin MH, Rhie GE, Park CH, Kim KH, Cho KH, Eun HC, Chung JH. Modulation of collagen metabolism by the topical application of dehydroepiandrosterone to human skin. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 315–323
- Shujun X, Wenyan M, Joachim WF, Shunpeng S, Peter ME and Mao-Qiang M.

- Cutaneous resonance running time varies with age, body site and gender in a normal Chinese population. *Skin Res Technol* 2010; 16: 413–421
- Simon F, Varela D, Eguiguren AL, Díaz LF, Sala F, Stutzin A. Hydroxyl radical activation of a  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive nonselective cation channel involved in epithelial cell necrosis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004; 287(4):C963-70
- Smalls LK, Randall Wickett R, Visscher MO. Effect of dermal thickness, tissue composition, and body site on skin biomechanical properties. *Skin Res Technol*. 2006; 12(1):43-9
- Songa SP, Elias PM, Lv CZ, Shi YJ, Guang P, Zhang XJ, Feingold KR, Man MQ. Decreased Cutaneous Resonance Running Time in Cured Leprosy Subjects. *Skin Pharmacol Physiol* 2009; 22: 218-224
- Sparsa A, Bonnetblanc JM. Litio. *Ann Dermatol Venereol*. 2004; 131(3): 255-61
- Stefaniak AB, Plessis J, John SM, Eloff F, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner MFC, Kudla I, Holness DL. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: part 1. pH. *Skin Res Technol*. 2013; 19(2): 59–68
- Strange, K. Cellular volume homeostasis. *Adv Physiol Educ*. 2004; 28(1-4): 155-9
- Taimor G, Lorenz H, Schlüter B. H, Piper H. M. Induction of necrosis but not apoptosis after anoxia and reoxygenation in isolated adult cardiomyocytes

- of rat. Cardiovasc Res. 1999; 41: 147-156
- Uhoda E, Piérard GE. Irritation cutanée et vitesse de propagation d'ondes ultrasonores. Int J Cosmet Sci. 2003; 25(1-2): 31-5
- Uhoda I, Faska N, Robert C, Cauwenbergh G, Piérard GE. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. Skin Res Technol 2002; 8: 164– 167
- Uhoda I, Petit L, Krzesinski JM, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Effect of haemodialysis on acoustic shear wave propagation in the skin. Dermatology 2004; 209: 95–100
- van Kemenade PM, Houben MMJ, Huyghe JM and Douven LFA: Do osmotic forces play a role in the uptake of water by human skin? Skin Res Technol. 2004; 10(2):109-12
- van Smeden J, Janssens M, Gooris GS, Bouwstra JA. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. Biochim Biophys Available online 16 November 2013
- van Tubergen A, van der Linden S. A brief history of spa therapy. Ann Rheum Dis 2002; 61: 273–275
- Verhaegen PD, Res EM, van Engelen A, Middelkoop E and van Zuijlen PM. A reliable, non-invasive measurement tool for anisotropy in normal skin and scar tissue. Skin Res Technol. 2010; 16(3): 325-31
- Verkman AS and Mitra AK. Structure and function of aquaporin water

- channels. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000; 278: F13–F28
- Vexler A, Polyansky I, Gorodetsky R. Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear wave propagation with viscoelasticity skin analyzer. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 732–739
- Vozmediano JM, Carbajo JM, Franco R, Milán VJ, Padilla M, Sarmiento C. Evaluation of the irritant capacity of decyl polyglucoside. *Int J Cosmet Sci*. 2000; 22(1): 73-81
- Wa CV, Maibach HI. Mapping the human face biophysical properties. *Skin Res Technol*. 2010;16: 38-54
- Waldegger S, Steuer S, Risler T, Heidland A, Capasso G, Massry S, Lang F. Mechanisms and clinical significance of cell volume regulation. *Nephrol.Dial.Transplant*. 1998; 13: 867-874
- Wehner F, Olsen H, Tinel H, Kinne-Saffran E, Kinne RK. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2003; 148, 1-80
- Welch WJ, Brown CR. Influence of molecular and chemical chaperones on protein folding. *Cell Stress Chaperones* 1. 1996;109-15
- Wiedow O, Streit V, Christophers E, Stander M. Liberation of human leukocyte elastase by hypertonic saline baths in psoriasis. *Hautartz* 1989; 40: 518–522
- Wilson D, Berardesca E, Maibach HI. In vitro transepidermal water loss:

- differences between black and white human skin. *Br J Dermatol* 1988; 119: 647-52
- Wright A, Rees S. Cardiac cell volume: crystal clear or murky waters? A comparison with other cell types. *Pharmacol Ther.* 1998; 80: 89-121
- Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bowlus RD, Somero GN. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science.* 1982; 217: 1214-22
- Yasuda H, Honda S, Yamamoto O, Asahi M.: Therapeutic effect of topical calcium gluconate for hydrofluoric acid burn-time limit for the start of the treatment. *J UOEH.* 1999; 21(3):209-16
- Yoshizawa Y, Tanojo H, Kim SJ, Maibach HI. Sea water or its components alter experimental irritant dermatitis in man. *Skin Res Technol.* 2001;7(1):36-9
- Youn SW, Kim SJ, Hwang IA, Park KC. Evaluation of facial skin type by sebum secretion: discrepancies between subjective descriptions and sebum secretion. *Skin Res Technol.* 2002; 8(3):168-72
- Zhai H, Chan HP, Farahmand S, Maibach HI. Measuring human skin buffering capacity: an in vitro model. *Skin Res Technol.* 2009; 15(4):470-5

## ANEXO I

### Gráficos

Gráfico 13	Flujo de agua osmótica de dos soluciones de NaCl .....	37
Gráfico 2	Flujo del agua a través de las membranas celulares en función de la tonicidad del medio .....	42
Gráfico 3	Volumen celular tras la pérdida o ganancia de solutos .....	44
Gráfico 4	Volumen celular tras la pérdida o ganancia de solutos .....	45
Gráfico 5	Principales moléculas que actúan como osmolitos .....	46
Gráfico 6	Mecanismos orgánicos que regulan la pérdida o acumu- lación de osmolitos en función de la ganancia o pérdida de soluto .....	47
Gráfico 7	Hinchado del volumen celular frente al tiempo y posterior recuperación en condiciones de hipotonicidad.....	50
Gráfico 8	Encogimiento y posterior recuperación del volumen celular que sucede en condiciones de hipertonicidad.....	52
Gráfico 9	Cambio de hipotonicidad a isotonicidad origina una acti- vación de mecanismos de captación de osmolitos celula- res en un proceso post-RVD RVI .....	53
Gráfico 10	Esquema del mecanismo iónico para RVD y RVI bajo condiciones fisiológicas y fisiopatológicas.....	61
Gráfico 11	Ciclo de regeneración cutánea. Muerte celular durante la descamación.....	63



Gráfico 12 Correlación TEWL en función de la raza .....	95
Gráfico 13 Cabezal de sonda de Cutometer .....	101
Gráfico 14 Curva de cutometría. Deformación de la piel vs tiempo.....	102
Gráfico 15 Medición cutométrica en un globo inflado .....	103
Gráfico 16 Características viscoelásticas de la piel .....	125
Gráfico 17 Diagramas de succión y relajación de un globo, antebrazo y contorno de ojo.....	126
Gráfico 18 Parámetros de cutometría .....	129
Gráfico 19 Resultados de Sebumetría a los 15, 30, 60 y 90 .....	142
Gráfico 20 Resultados de Evaporimetría a los 15, 30, 60 y 90 .....	143
Gráfico 21 Resultados de pH a los 15, 30, 60 y 90 .....	144
Gráfico 22 Resultados de Reviscometría a los 15, 30, 60 y 90 .....	145
Gráfico 23 Resultados de Distensibilidad cutánea a los 15, 30, 60 y 90	148
Gráfico 24 Resultados de Elasticidad bruta a los 15, 30, 60 y 90.....	149
Gráfico 25 Resultados Viscoelasticidad cutánea a los 15, 30, 60 y 90 ...	149
Gráfico 25 Resultados de Fatiga cutánea a los 15, 30, 60 y 90 .....	149

## ANEXO II

### Figuras

Figura 14	Gruta del manantial de La Capuchina-Lanjarón.....	72
Figura 2	Sebumeter para determinar los lípidos superficiales totales.....	87
Figura 3	Corte transversal del cilindro de la sonda del Tewameter.....	97
Figura 4	Sistema Tewameter .....	98
Figura 5	Cutometer MPA 580 .....	98
Figura 6	Esquema del interior de la sonda de un Reviscómetro.....	106
Figura 7	Sonda de un Reviscómetro .....	108
Figura 8	Determinación presión osmótica. Aguas de La Capuchina y Salado .....	110
Figura 9	Peloides de La Capuchina y El Salado .....	112
Figura 10	Lugar de las determinaciones no-invasivas en el rostro.....	116
Figura 11	Sistema de medición del Reviscómetro .....	133

## ANEXO III

### Tablas

Tabla 15	Agua Lanjarón-Capuchina. Contenido iónico .....	25
Tabla 2	Composición cualitativa de los preparados dermatológicos empleados. ....	63
Tabla 3	Valores sebumétricos de distintas zonas corporales y tipos De piel .....	119
Tabla 4	pH de tipos de pieles normales según sexo .....	121
Tabla 5	Pérdida transepidérmica de agua en el rostro en distintos tipos de alteraciones cutáneas. ....	123
Tabla 6	Resultados de la prueba In-Use test .....	138
Tabla 4	pH de tipos de pieles normales según sexo .....	121
Tabla 5	Pérdida transepidérmica de agua en el rostro en distintos tipos de alteraciones cutáneas. ....	123
Tabla 6	Resultados de la prueba In-Use test .....	138
Tabla 7	Resultados .....	140